



Estudio de distintos métodos de conservación de bacterias ácido lácticas, determinar su vida útil y eficacia luego de la conservación para la aplicación en productos agrícolas MPF (Mínimamente procesados en fresco).

Alcivar Sacón, Keeylen Littsay

Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería en Biotecnología

Trabajo de integración curricular, previo a la obtención del título de Ingeniera en Biotecnología

PhD. Sánchez Llaguno, Sungey Naynee

24 de febrero del 2023



Departamento de Ciencias de la Vida y la Agricultura

Carrera de Ingeniería en Biotecnología

Certificación

Certifico que el trabajo de Integración curricular: **"Estudio de distintos métodos de conservación de bacterias ácido lácticas, determinar su vida útil y eficacia luego de la conservación para la aplicación en productos agrícolas mpf (minimamente procesados en fresco)."** fue realizado por la señorita **Alcivar Sacon Keeylen Littsay**; el mismo que cumple con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, además fue revisado y analizado en su totalidad por la herramienta de prevención y/o verificación de similitud de contenidos; razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que se lo sustente públicamente.

Santo Domingo de los Tsáchilas, 24 febrero del 2023

Firma:



Sánchez Liaguno Sungey Naynee PhD
C. C.1205348573

Director del Proyecto de Investigación



Departamento de Ciencias de la Vida y la Agricultura

Carrera de Ingeniería en Biotecnología

Responsabilidad de Autoría

Yo, **Alcivar Sacon Keeylen Littsay**, con cédula de ciudadanía N°1105850844, declaró que el contenido, ideas y criterios del trabajo de integración curricular: **“Estudio de distintos métodos de conservación de bacterias ácido lácticas, determinar su vida útil y eficacia luego de la conservación para la aplicación en productos agrícolas mpf (minimamente procesados en fresco)”** es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos, y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Santo Domingo de los Tsáchilas, 24 febrero del 2023

Firma

Alcivar Sacon Keeylen Littsay

C.C.:1105850844



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

Departamento de Ciencias de la Vida y la Agricultura

Carrera de Ingeniería en Biotecnología

Autorización de Publicación

Yo, **Alcivar Sacon Keeylen Littsay**, con cédula de ciudadanía N°1105850844, autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de integración curricular: **“Estudio de distintos métodos de conservación de bacterias ácido lácticas, determinar su vida útil y eficacia luego de la conservación para la aplicación en productos agrícolas mpf (mínimamente procesados en fresco)”** en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de nuestra responsabilidad.

Santo Domingo de los Tsáchilas, 24 febrero del 2023

Firma

Alcivar Sacon Keeylen Littsay

C.C.:1105850844

Dedicatoria

Este trabajo de titulación es dedicado con todo mi corazón a mis Padres Lissette y Washington, quienes han sido el pilar fundamental en mi vida y en mis estudios, ayudándome a alcanzar mis metas tanto personales como académicas, aconsejándome y guiándome por el camino del bien.

A mis hermanas Helen, Ivanova y Valentina, quienes han sido mi fuerza y motivo de inspiración, por creer en mí en todo mi trayecto y brindarme su apoyo siempre.

Gracias por estar siempre, Los Amo

Littsay

Agradecimiento

En primer lugar, le agradezco a Dios, por haberme permitido llegar a este punto con salud y permitirme alcanzar cada una de mis metas propuestas.

A mis padres quienes, con sacrificio y apoyo infinito e incondicional, me permitieron culminar mis estudios brindándome siempre palabras de aliento y fuerza.

A mis profesores, quienes supieron impartir sus conocimientos y fueron guías durante esta etapa.

A mi tutora la Dra. Sungey quien me supo compartir sus conocimientos para poder llevar a cabo la presente investigación.

A mis amigos y compañeros quienes a lo largo de mi carrera aportaron con sus conocimientos, consejos, enseñanzas, risas y experiencias; alegrando esta estancia universitaria.

A mi pareja Bryan quien ha sido un compañero y amigo en mi vida estudiantil y me ha brindado su amor, sus conocimientos, su alegría y apoyo infinito.

De igual forma agradezco a las personas que directa e indirectamente aportaron en mi vida y en mi crecimiento como persona y como profesional.

Littsay

Índice de contenido

Carátula	1
Reporte de verificación de contenido	2
Certificación	3
Responsabilidad de Auditoría	4
Autorización de Publicación	5
Dedicatoria	6
Agradecimiento	7
Índice de contenido	8
Índice de tablas	13
Índice de figuras	14
Resumen	16
Abstract	17
Capítulo I	18
Introducción	18
Objetivos	20
Objetivo general	20
Objetivos específicos	20
Hipótesis	21
Hipótesis del factor A (Hortalizas)	21
Hipótesis del factor B (Bacterias ácido lácticas)	21

Hipótesis del factor C (Método)	21
Capítulo II	22
Revisión de Literatura	22
Bacterias ácido lácticas	22
Generalidades	22
Taxonomía	23
Actividad antimicrobiana	23
Efecto bioconservante en alimentos	24
Productos mínimamente procesados en fresco (MPF)	25
Zanahoria	25
Taxonomía	26
Valor nutricional	27
Manejo postcosecha	28
Apio	28
Taxonomía	29
Valor nutricional	29
Manejo poscosecha	30
Gelación iónica	31
Capítulo III	33
Materiales y Métodos	33
Ubicación del área de Investigación	33

	10
Ubicación política	33
Ubicación Ecológica	33
Ubicación Geográfica	34
Materiales	35
Siembra de bacterias ácido lácticas	35
Enriquecimiento selectivo de bacterias ácido lácticas	35
Elaboración de la solución bioconservante	36
Encapsulación de bacterias ácido lácticas	36
Recuento de poblaciones microbianas	37
Determinación de pH	37
Determinación de acidez titulable	38
Determinación de humedad	38
Determinación de cenizas	39
Métodos	39
Siembra de bacterias ácido lácticas	39
Enriquecimiento selectivo de bacterias ácido lácticas	40
Bioconservación de las hortalizas	40
Preparación de la solución bacteriana	40
Preparación de la Gelación iónica.	40
Preparación de la muestra.	41
Diseño Experimental	42

	11
Factores de estudio	42
Tratamientos de estudio	43
Tipo de diseño	44
Repeticiones	44
Análisis estadístico	44
Análisis funcional	45
VARIABLES EVALUADAS	45
Determinación de pH	45
Determinación de la acidez titulable	45
Determinación de Humedad	46
Determinación de cenizas	47
Recuento de poblaciones microbianas	47
Análisis sensorial	48
Capítulo IV	49
Resultados	49
Análisis de varianza	49
Análisis de varianza para acidez.	50
Análisis de varianza para humedad.	51
Análisis de varianza para cenizas.	52
Parámetro microbiológico en las hortalizas	64
Análisis de conglomerados	65

	12
Análisis de componentes principales	67
Análisis sensorial	69
Capítulo V	71
Discusión	71
Respecto al Factor A (Hortalizas)	71
Respecto al Factor B (Bacterias ácido lácticas)	73
Respecto al Factor C (Métodos)	74
Respecto a la Interacción AxBxC (Hortaliza x Bacteria x Método)	75
Capítulo VI	77
Conclusiones	77
Factor A (Hortalizas)	77
Factor B (Bacterias)	77
Factor C (Métodos)	78
Recomendaciones	80
Capitulo VII	81
Bibliografía	81

Índice de tablas

Tabla 1	Clasificación taxonómica de la zanahoria.	22
Tabla 2	Contenido de nutrientes de la zanahoria en 100 gramos de porción comestible	23
Tabla 3	Clasificación taxonómica del Apio.	25
Tabla 4	Contenido de nutrientes del Apio en 100 gramos de porción comestible.	26
Tabla 5	Recursos utilizados para la siembra de BAL.	31
Tabla 6	Recursos utilizados para el enriquecimiento de BAL	31
Tabla 7	Recursos utilizados para la elaboración de la solución bioconservante	32
Tabla 8	Recursos utilizados en la encapsulación de bacterias ácido lácticas.	32
Tabla 9	Recursos utilizados para el recuento de poblaciones microbianas.	33
Tabla 10	Recursos utilizados para la determinación de pH.	34
Tabla 11	Recursos utilizados para la determinación de acidez titulable.	34
Tabla 12	Recursos utilizados para la determinación de humedad.	35
Tabla 13	Recursos utilizados para la determinación de cenizas.	35
Tabla 14	Factores y niveles a probar en el estudio de la bioconservación de zanahoria y apio, utilizando dos métodos de aplicación de bacterias ácido lácticas.	38
Tabla 15	Tratamiento a comparar en el estudio de la bioconservación de zanahoria y apio, utilizando dos métodos de aplicación de bacterias ácido lácticas.	38
Tabla 16	Esquema de análisis de varianza para el estudio de la bioconservación de Zanahoria y Apio, a partir de dos métodos de aplicación de bacterias ácido lácticas.	40
Tabla 17	Análisis de varianza para pH a los 10 días de bioconservación de la hortaliza.	45
Tabla 18	Análisis de varianza para acidez a los 10 días de bioconservación de la hortaliza.	46
Tabla 19	Análisis de varianza para humedad a los 10 días de bioconservación de la hortaliza	47
Tabla 20	Análisis de varianza para cenizas a los 10 días de bioconservación de la hortaliza.	48
Tabla 21	Prueba de significación de Tukey ($p < 0,05$) para resultados de análisis físicoquímicos (Factor A: Hortalizas)	49

Tabla 22	Prueba de significación de Tukey ($p < 0,05$) para resultados de análisis fisicoquímicos (Factor B: Bacterias ácido lácticas)	51
Tabla 23	Prueba de significación de Tukey ($p < 0,05$) para resultados de análisis fisicoquímicos (Factor C: Métodos)	53
Tabla 24	Prueba de significación de Tukey ($p < 0,05$) a los 10 días de bioconservación, para resultados de análisis fisicoquímicos (Interacción A*B*C)	55
Tabla 25	Recuento de bacterias aerobias y mohos/levaduras a los 10 días de la bioconservación de las hortalizas.	60
Tabla 26	Historial de conglomeración	62
Tabla 27	Matriz de correlación de componentes principales	64
Tabla 28	Matriz de componentes	64
Tabla 29	Porcentajes de varianza total explica	64

Índice de figuras

Figura 1	Mapa de ubicación geográfica del lugar de estudio	30
Figura 2	Efecto de las hortalizas (Factor A) a los 10 días de bioconservación en las distintas variables de estudio.	50
Figura 3	Efecto de las Bacterias (Factor B) a los 10 días de bioconservación en las distintas variables de estudio.	51
Figura 4	Efecto de los tipos de métodos de aplicación (Factor C) a los 10 días de bioconservación en las distintas variables de estudio.	53
Figura 5	Efecto de la interacción A*B*C de la variable pH a los 10 días de bioconservación.	56
Figura 6	Efecto de la interacción A*B*C de la variable acidez a los 10 días de bioconservación.	57

Figura 7	Efecto de la interacción A*B*C de la variable humedad a los 10 días de bioconservación.	58
Figura 8	Efecto de la interacción A*B*C de la variable cenizas a los 10 días de bioconservación.	59
Figura 9	Dendrograma para los factores de estudio	63
Figura 10	Gráfica de sedimentación	65
Figura 11	Gráfica de componentes principales	66
Figura 12	Comparación de los mejores tratamientos del análisis sensorial de las hortalizas en el día 10 de la Bioconservación con los distintos métodos de aplicación.	67

Resumen

El estudio tuvo como objetivo estudiar la eficacia de las bacterias ácido lácticas como conservantes, evaluando dos métodos de acondicionamiento del bioconservante mediante gelación iónica y rocío en dos tipos de hortalizas MPF, buscando mantener sus valores nutricionales y sensoriales, por ello la investigación se desarrolló en los laboratorios especializados de la Carrera de Biotecnología de la UFA sede Santo Domingo; para la obtención de las Bacteriocinas, se inocularon las bacterias previamente identificadas mediante secuenciación, en caldo MRS y se suspendieron en un tampón ácido cítrico-citrato de sodio; Para la obtención de cápsulas mediante el método de gelación iónica, se procedió añadiendo 2 g de alginato de sodio en 50 ml del bioconservante luego se agregó por goteo en cloruro de calcio, posteriormente se las aplico en las Hortalizas que fueron previamente procesadas; en el método de rocío, se aplicó mediante un atomizador las bacteriocinas en el producto. La fase experimental fue establecida mediante ANOVA DBCA con modelo factorial AXBXC, donde (A: Hortalizas: Zanahoria, Apio; B: Bacterias: *L. mesenteroides*, *L. lactis*, *L. plantarum*; Métodos: Gelación Iónica, Rocío), se realizaron 36 Unidades Experimentales de las cuales fueron 12 tratamientos y 3 réplicas. Los parámetros a evaluar fueron pH, acidez, humedad, cenizas y conteo bacteriano, esto en un tiempo de conservación de 10 días, como resultados relevantes se pudo establecer que los tratamientos con zanahoria presentaron diferencia con el método de rocío para los tres tipos de bacterias y se pudo concluir que zanahoria con *Leuconostoc mesenteroides* aplicado por rocío da valores para el pH (4,86), que permite detectar presencia de bacterias ácido lácticas. Sin embargo, el uso de *Leuconostoc mesenteroides* con rocío para el apio también dio buenos resultados para pH con (5,07); mientras que el tratamiento con *Lactococcus lactis* aplicado por rocío en zanahoria presentó mejores resultados para acidez; Por ello es recomendable el uso de *Leuconostoc* por rocío en tratamientos de bioconservación.

Palabras clave: Bacterias ácido lácticas, Zanahoria, Apio, Gelación iónica, Bioconservación

Abstract

The study had like objective study the efficacy of the lactic acid bacterias as preservatives, for this was evaluated two methods of conditioning of the biopreservative through Ionic gelation and dew in two types of vegetables FMP, searching keep their nutritional and sensory values, by this the investigation was development in the specialized laboratories of the biotech career of the UFA headquarters Santo Domingo; for obtaining of the bacteriocins, were inoculated the bacteria previously identified through sequencing, in MRS broth and suspended in a citric-citrate acid tampon of sodium; for obtaining of capsules through the ionic gelation method, we proceeded adding 2 g of sodium alginate in 50 ml of biopreservative and then this was added by drip in calcium chloride, subsequently these were applied to the vegetables that were previously processed; in the dew method, to applied a atomizer the bacteriocions in the product. The experimental phase was established through ANOVA DBCA with factorial model $A \times B \times C$, where (A: Vegetables: Carrot, Celery; B: Bacteria: *L. mesenteroides*, *L. lactis*, *L. plantarum*; Methods: Ionic gelation, dew), 36 experimental units were made, of wich were 12 tratamientos and 3 réplicas. The parameters to be evaluated were pH, acidity, humidity, ask and bacterial count, this is a preservation time of 10 days, as relevant results was possible to establish that the treatments with carrot presented difference with the dew method for the three types of bacteria and could be concluded that carrot with *Leuconostoc mesenteroides* applied by dew, gives values for the pH (4.86), that allows to detect presence the lactic acid bacterias. However, the use of *Leuconostoc mesenteroides* with dew for the celery also gave good results as for a the pH with (5,07); while that the tratamiento with *Lactococcus lactis* applied by dew in carrot presented best results for the acidity; by this is recommendable the use of *Leuconostoc* by dew in tratamientos of bioconservation.

Keywords: *lactic acid bacterias, Carrot, Celery, Ionic Gelation, Bioconservation*

Capítulo I

Introducción

En Ecuador se realiza la producción de varias especies de hortalizas entre ellas el apio (*Apium graveolens*) que es producido en las provincias de Imbabura y Cotopaxi, y también la zanahoria (*Daucus carota L.*) que es producida en las provincias de Tungurahua, Chimborazo, Cotopaxi, Pichincha y Bolívar donde se produce alrededor de 28130 toneladas anuales (Cruz-Tobar, y otros, 2018).

El consumo de las hortalizas es de vital importancia en la dieta alimenticia ya que éstos de forma natural contienen altos niveles de proteínas, vitaminas y minerales para poder mejorar o mantener la salud de los consumidores es por ende que se busca mejorar la conservación de éstas para poder garantizar una distribución de buena calidad de manera local y globalizada

La tendencia de consumir alimentos más saludables y equilibrados, ha permitido desarrollar ciertas tecnologías que permitan mantener y mejorar sus valores nutricionales y sensoriales. Sin embargo, factores como el tiempo evitan que se pueda llevar una alimentación saludable por ende se ha buscado la implementación de productos mínimamente procesados en frescos (MPF), estos consisten en alimentos que han sufrido ciertas operaciones las cuales permiten prolongar su vida útil y mantener o mejorar sus propiedades nutricionales y sensoriales (Inocente Quiroz, Eccoña Sota, & Silva Paz, 2021).

Para los procesos de biopreservación se usan a las Bacterias Ácido Lácticas (BAL) producto de la fermentación de lácteos, carnes o vegetales, las cuales cumplirán la función conservar y mejorar las características del producto (textura, olor, sabor) y además mejoran los nutrientes presentes. El conjunto de todos estos microorganismos viene a conformar los muy conocidos “probióticos” los cuales al ser ingeridos por las personas en forma de embutidos, quesos o yogures y en el caso de los animales en los alimentos resultantes del ensilaje

contienen múltiples beneficios para mejorar la salud de su consumidor (Ramírez Ramírez, Rosas Ulloa, Velázquez González, Ulloa, & Arce Romero)

La técnica de encapsulación cumple la función de poder conservar ciertos compuestos bioactivos para así poderlos proteger o a su vez incorporarlos en un medio de destino; esta formación de cápsulas se puede realizar por distintos métodos, cómo en este caso es la gelación iónica que a partir de gotas que contienen sustancias resultantes de la mezcla de material que servirá para el recubrimiento con el compuesto que se espera encapsular (Nallely Ortiz Romero, 2021).

Objetivos

Objetivo general

Estudiar distintos métodos de conservación de bacterias ácido lácticas, determinar su vida útil y eficacia luego de la conservación para la aplicación en productos agrícolas MPF (Mínimamente procesados en fresco).

Objetivos específicos

Evaluar el efecto de la aplicación de las bacterias ácido lácticas conservadas para la bioprotección de dos productos agrícolas mínimamente procesados en fresco (MPF) ; zanahoria y apio.

Determinar mediante análisis fisicoquímicos y microbiológicos la eficacia de las bacterias ácido lácticas como conservante, considerando tres géneros distintos: *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus plantarum* y *Lactococcus lactis*, en productos agrícolas MPF.

Determinar la eficacia de distintos métodos de conservación de bacterias ácido lácticas: Gelación iónica y Roció.

Hipótesis

Hipótesis del factor A (Hortalizas)

Ho: EL tipo de hortaliza no influye en la bioconservación con bacterias ácido lácticas.

Ha: El tipo de hortaliza si influye en la bioconservación con bacterias ácido lácticas.

Hipótesis del factor B (Bacterias ácido lácticas)

Ho: El tipo de bacteria ácido láctica no influye en la bioconservación de la hortaliza.

Ha: El tipo de bacteria ácido láctica si influye en la bioconservación de la hortaliza.

Hipótesis del factor C (Método)

Ho: El tipo de método de aplicación de las bacterias ácido lácticas, no influyen en la bioconservación de la hortaliza.

Ha: El tipo de método de aplicación de las bacterias ácido lácticas, si influyen en la bioconservación de la hortaliza.

Capítulo II

Revisión de Literatura

Bacterias ácido lácticas

Generalidades

Las bacterias ácido lácticas (BAL), son consideradas como un grupo de microorganismos no patógenos, que se encuentran presentes en ambientes nutritivos. Son considerados cocos, gram positivos, inmóviles, catalasas negativas y no son esporulantes. (Thayná Thamires Freire, 2021)

Su alto potencial biotecnológico, les ha permitido tener gran relevancia en la industria alimentaria generalmente como probióticos, puesto que su gran capacidad de antagonismo permite de alguna manera ampliar la vida útil de diversos alimentos, mejorando ciertas características morfológicas y sensoriales. (Ana B. Benavides, 2016)

A lo largo de los años se ha venido utilizando estas bacterias ácido lácticas de una forma tradicional en procesos de fermentación; sin embargo, actualmente sus usos y su crecimiento en el mercado se ha dado por su gran utilidad en productos que otorgan beneficios saludables a los consumidores. En donde las bacterias ácido lácticas que son más utilizadas son las especies de *Lactobacillus* y *Bifidobacteria*, sin dejar atrás a las bacterias tradicionales de la fermentación del yogurt que son *Lactococcus* y *Streptococcus spp.* (Michiel Kleerebezem, 2011)

La función principal de las BAL, recae en la producción de ácido láctico lo cual busca acidificar los distintos alimentos. Es aplicado como un cultivo iniciador de productos como carnes, yogurt, frutas y hortalizas. Estas tienden a aportar en el sabor, la textura e incluso en la parte nutricional del alimento o producto. Siendo también contribuyentes de la inhibición de patógenos y a su vez actuar como bioprotectores. (Bintsis, 2018)

Taxonomía

Estas bacterias ácido lácticas pertenecen al Filo Firmicutes mismo que oscila 21 géneros entre *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus* y *Lactobacillus*, entre otros. Siendo este último el más numeroso de estos géneros conteniendo alrededor de 60 especies. (Huertas, 2010).

Las características taxonómicas de las bacterias ácido lácticas, se encuentran basadas en los rasgos fenotípicos, el perfil de azúcar y la temperatura, en donde se distinguen dos grupos las bacterias homofermentadores y las heterofermentadoras, siendo las primeras las capaces de producir ácido láctico directamente, mientras que las segundas descomponen la lactosa en ácido láctico en un 50% y otros compuestos como dióxido de carbono y etanol. (Huertas, 2010)

Actividad antimicrobiana

Las BAL tienden a producir compuestos antimicrobianos, mismos que poseen la capacidad de inhibición de microorganismos patógenos, esto se da debido a la formación de bacteriocinas, los cuales son denominados como péptidos, quienes poseen la capacidad de generación de resistencia, multiplicidad y la formación de una flora balanceada. Logrando evitar el deterioro de los alimentos y a su vez incrementar la vida útil de los mismos. (Hernani Larre, Flórez F., & Huapaya Y., 2007)

Menciona que existe diversidad de estudios en donde se ha utilizado las bacterias ácidas lácticas en la fermentación de levaduras para posteriormente aplicarla como inhibidores de fusarium, Así mismo se ha estudiado la aplicación en productos como cereales, para la inhibición de *B. cereus*. (Huertas, 2010)

Efecto bioconservante en alimentos

En la industria alimentaria, la esterilización es un proceso crítico para garantizar la seguridad y calidad de los alimentos. Los métodos tradicionales de esterilización incluyen el uso de desinfectantes químicos y la esterilización por calentamiento a alta temperatura. Aunque estos métodos pueden ser efectivos para erradicar bacterias dañinas. Además, algunos alimentos pueden volverse muy blandos o perder su textura original después de la esterilización. (Dayong Ren, 2018)

Actualmente se ha considerado el uso de bacterias ácido lácticas en productos lácteos como conservantes naturales, esto debido a su gran capacidad de producir metabolitos como el ácido láctico, peróxido de hidrógeno, diacetilo, dióxido de carbono (CO₂) y las bacteriocinas, siendo estas la de mayor interés (Heredia Castro, Hernández Mendoza, & González Córdova, 2017)

Es cierto que en las últimas décadas se ha observado un aumento en la exigencia de estándares de calidad en la industria alimentaria. Esto se debe a una creciente conciencia por parte de los consumidores sobre la importancia de consumir alimentos frescos y saludables, y también a la preocupación por la presencia de contaminantes y conservantes químicos en los alimentos.

Es por ello que las bacteriocinas se han propuesto como una alternativa natural para la conservación de alimentos. La ventaja de utilizar estas bacteriocinas como conservantes es que se trata de un método natural y seguro que no utiliza conservantes químicos ni otros aditivos artificiales. Además, se ha demostrado que su uso no afecta negativamente las propiedades sensoriales y nutricionales de los alimentos, y en algunos casos puede incluso mejorarlas (Heredia Castro, Hernández Mendoza, & González Córdova, 2017)

Productos mínimamente procesados en fresco (MPF)

Actualmente en los países industrializados está creciendo la demanda de productos vegetales mínimamente procesados en fresco (MPF), también conocidos como productos de la "Cuarta gama". Esto se debe en gran parte a un cambio en los hábitos alimentarios de la población, con un mayor énfasis en la alimentación saludable y la conveniencia. (Artés, Gómez, Artés--Hernández, & Aguayo, 2011)

Estos productos son caracterizados por ser frescos, saludables y listos para consumir, lo que los convierte en una opción práctica para las personas que tienen poco tiempo para preparar sus comidas. Además, estos productos se venden en envases de porciones individuales, lo que reduce el desperdicio de alimentos y los hace ideales para personas que viven solas o parejas. Por otro lado, los consumidores esperan que los productos sean sabrosos y atractivos a la vista, así como tener una textura agradable y crujiente. Además, esperan que estos productos mantengan su calidad organoléptica durante toda su vida útil, lo que puede ser un desafío para los productores. (González)

Zanahoria

La zanahoria (*Daucus carota*) es una planta herbácea. Es una planta anual que pertenece a la familia de las Apiáceas, es originaria de Asia y Europa, y ha sido cultivada por sus raíces comestibles durante miles de años. Es una planta de clima templado que prefiere suelos sueltos y arenosos, y puede ser cultivada en diferentes climas y regiones del mundo. (Payan, 1995)

Las zanahorias son raíces engrosadas que crecen sobre el suelo y también almacenan nutrientes. Es considerado un alimento bajo en calorías, y no es una fuente significativa de energía en una dieta equilibrada. Es rica en carotenos, en particular en beta-caroteno, que es un precursor de la vitamina A. Este vegetal posee un alto contenido de agua, el cual varía

según el grado de madurez y otros factores. En general, se estima que el contenido de agua de la zanahoria fresca oscila entre el 80% y el 90% de su peso.

La zanahoria es una hortaliza con una apariencia llamativa, uniforme y sólida, con una variedad de formas posibles. Además, su color naranja brillante es un indicativo de su valor nutricional y antioxidante. (Bogotá, 2015)

En Ecuador la cantidad promedio de consumo de zanahorias por persona es de 1,64 kg al año. Asimismo, se destaca que la mayor producción de esta hortaliza en el país proviene principalmente de las provincias de Chimborazo, Cotopaxi y Tungurahua, que en conjunto representan el 94% de la producción nacional. De esta manera, se puede inferir que la producción de zanahorias es un sector importante para la economía de estas provincias y del país en general. (Alexander, 2021)

Taxonomía

Tabla 1

Clasificación taxonómica de la zanahoria.

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Apiales
Familia	Apiaceae
Género	Daucus
Especie	Carota
Nombre Científico	Daucus carota L.

Fuente: Recuperado de (Alexander, 2021)

Valor nutricional

Es muy conocido que la zanahoria es beneficiosa para el desarrollo mental y el metabolismo, y que también puede ayudar a regular los niveles de azúcar en la sangre y de insulina.

La zanahoria es una hortaliza altamente nutritiva que contiene una gran cantidad de vitamina A, B3, B6 y potasio, lo que contribuye a la normalización del ritmo cardíaco y la presión arterial. También contiene cantidades más bajas de vitamina C y vitamina B.

Tabla 2

Contenido de nutrientes de la zanahoria en 100 gramos de porción comestible

Nutrientes	Contenido
Energía (kcal)	40
Proteínas (g)	0.9
Lípidos (g)	0.2
Hidratos de carbono (g)	7.3
Agua (g)	88.7
Fibra (g)	2.9
Calcio (mg)	41
Hierro (mg)	0.7
Magnesio (mg)	13
Zinc (mg)	0.3
Sodio	77
Potasio	255
Fósforo	37

Fuente: Recuperado de (Moreiras, Carbajal, & Cabrera Luisa, 2009)

Manejo postcosecha

Diversos factores como el manejo, almacenamiento y sanidad influyen de manera directa en relación a las pérdidas de estos productos, sobre todo si no se realizan de manera correcta los procesos de almacenamiento y cosecha, misma que se da cuando estas se encuentran en estado inmaduro y esta va a depender de factores como el tipo de mercado, cuál será su uso y su destino.

Realizar un enfriamiento inmediato de las zanahorias después de su cosecha, es el proceso más adecuado para su conservación. Este método no solo enfría las raíces, sino que también las limpia (Rojas, 2015)

En la preservación de las zanahorias se pueden presentar diversos inconvenientes, mismos que pueden ser causados por el ambiente, baja humedad o por la presencia de ciertos hongos, que pueden llegar a causar la pudrición de las raíces (Carolina, 2015).

Si se llega a almacenar las zanahorias a temperaturas inferiores a 0°C, se pueden presentar daños debido al frío, lo cual llega a visualizarse a partir de manchas oscuras en su interior. La enfermedad más común en esta hortaliza es la Sclerotinia, la cual infecta la raíz y en el almacenamiento este hongo genera un tipo de micelio algodonoso que recubre las raíces y con el tiempo estas se vuelven blandas y liberan un líquido (Rendón Ledesme, 2021)

Apio

El Apio (*Apium graveolens*) es una planta herbácea que pertenece a la familia de las Umbelíferas, la cual es originaria del Mediterráneo, aunque también ha sido vista en regiones como el Cáucaso y el Himalaya. Esta hortaliza es consumida actualmente por toda Europa y América del norte. (Herrera Narváez, 2016)

Esta hortaliza presenta mejor adaptación en climas templados y es capaz de adaptarse a climas fríos, posee un gran valor comercial y nutricional, ya que son ricos en fibra, vitamina y

minerales; sus ancestros sean visto de manera silvestre y en zonas humedad pantanosas, siendo este un indicativo de alto requerimiento de agua.

Entre las características morfológicas que más destacan están su tallo grueso, hueco y estriado. Es considerada como una hortaliza ligera puesto que en su composición el 95 % es agua. (Favaro & Bouzo, 2019)

Es considerada una hortaliza saludable y refrescante, además de poseer características diuréticas, también es considerada como una fuente de vitaminas B1, B2 y B6. (Surec Rabinal, 2017)

Taxonomía

Tabla 3

Clasificación taxonómica del Apio.

Reino	Plantae
Clase	Magnoliopsida
Familia	Apiales
Género	Apiaceae
Especie	Apium
Nombre Científico	Apium graveolens L
Nombre común	Apio

Fuente: Extraído de (Surec Rabinal, 2017)

Valor nutricional

Esta hortaliza era utilizada como un calmante, se ha identificado que también mejora la circulación y permite la disminución del colesterol. De igual forma presenta propiedades depurativas y diuréticas, este es recomendada para problemas de artritis.

Tabla 4

Contenido de nutrientes del Apio en 100 gramos de porción comestible.

Nutrientes	Contenido
Calorías	16 kcal
Agua	94.64 g
Proteínas	0.75 g
Grasas	0.14 g
Cenizas	0.82 g
Carbohidratos	3.65 g
Calcio	40 mg
Fibra	1.7 g
Hierro	0.4 mg
Vitamina C	7 mg
Fósforo	25 mg

Fuente: Extraído de (Surec Rabinal, 2017)

Manejo poscosecha

La cosecha del apio es realizada cuando los tallos de éste presentan una altura de aproximadamente 20 cm y la esponjosidad de los pecíolos no sea demasiado desarrollada, siendo el estado óptimo para la comercialización del mismo.

El apio cosechado presenta una característica muy peculiar en su tallo que es de crujiir al momento de quebrarse, siendo ésta obtenida por un buen procedimiento en su cosecha y post cosecha; para poder obtener ésta característica se debe realizar la cosecha a tempranas horas del día para mantener un ambiente fresco o a su vez en horas de la tarde; luego en el proceso de post cosecha se lo debe colocar al apio en cajas previamente lavadas con agua

que haya sido desinfectada por un proceso de cloración, para luego ser almacenadas en lugares bajo sombra y con fuentes de ventilación, siendo evitada la presencia del sol para poder conservar las características del producto.

En lo que respecta al almacenamiento de este producto, se lo debe realizar a temperaturas entre los 0° y 2° C para poder lograr un almacenamiento entre 5 a 7 semanas, ya que a temperaturas superiores a los 5° C en el interior de los tallos ocurre crecimiento y la las concentraciones de etileno aumenta siendo estas mayor a 10 ppm y se empieza a perder la calidad del color verde en el producto (Angel, 2005)

Gelación iónica

Esta técnica tiene la finalidad de poder realizar cápsulas con una medida no superior a las 1000 µm de diámetro. Para poder realizar esta técnica se necesitan materiales como celulosas, gomas, carbohidratos, proteínas y lípidos que sirvan para recubrir las cápsulas, presentando además como ventaja el no uso de temperaturas elevadas para su producción.

Por lo general para la realización de ésta técnica se usa el polímero que es el alginato de sodio, siendo el mayoritariamente usado en la industria farmacéutica para cubrir los fármacos; éste es ecológico de fácil adquisición además de no ser tóxico, y posee propiedades como una viscosidad baja, altamente reactivo respecto a los iones del calcio y su peso molecular favorece la producción en dureza para la capa exterior de las cápsulas, lo cual no dejará que la solución contenida en el interior no se pueda liberar de forma rápida, es por ende que se aprovechará de mejor manera el compuesto encapsulado. (Ortiz-Romero, Ochoa-Martínez, González-Herrera, & Rutiaga-Quñones, 2021)

Para la producción de estas cápsulas, se dispensa la solución por medio de la boquilla de la micropipeta para así poder generarla en forma de gota y caigan en el recipiente que contiene el cloruro de calcio; al realizar este proceso se están realizando geles de consistencia

heterogénea, lo cual es producir solamente una gelificación externa, dejando al núcleo sin ninguna reacción, es decir se mantiene blando y la capa exterior de estas cápsulas se mantiene rígida. (Ortiz-Romero, Ochoa-Martínez, González-Herrera, & Rutiaga-Quiñones, 2021)

Capítulo III

Materiales y Métodos

Ubicación del área de Investigación

Ubicación política

País:	Ecuador
Provincia:	Santo Domingo de los Tsáchilas
Cantón:	Santo Domingo
Parroquia:	Luz de América
Sector:	Vía Quevedo, Km 24

Ubicación Ecológica

Zona de vida:	Bosque Húmedo Tropical
Altitud:	224 msnm
Temperatura media:	24,6 °C
Precipitación:	2860 mm/año
Humedad relativa:	85 %
Heliofanía:	680 horas luz/año
Suelo:	Franco Arenoso

Ubicación Geográfica

El presente proyecto de investigación se realizó en los laboratorios de Bromatología y Microbiología de Alimentos, pertenecientes a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE Extensión Santo Domingo, el mismo que está ubicado en la Hcda. Zoila Luz, Vía Santo Domingo - Quevedo Km 24.

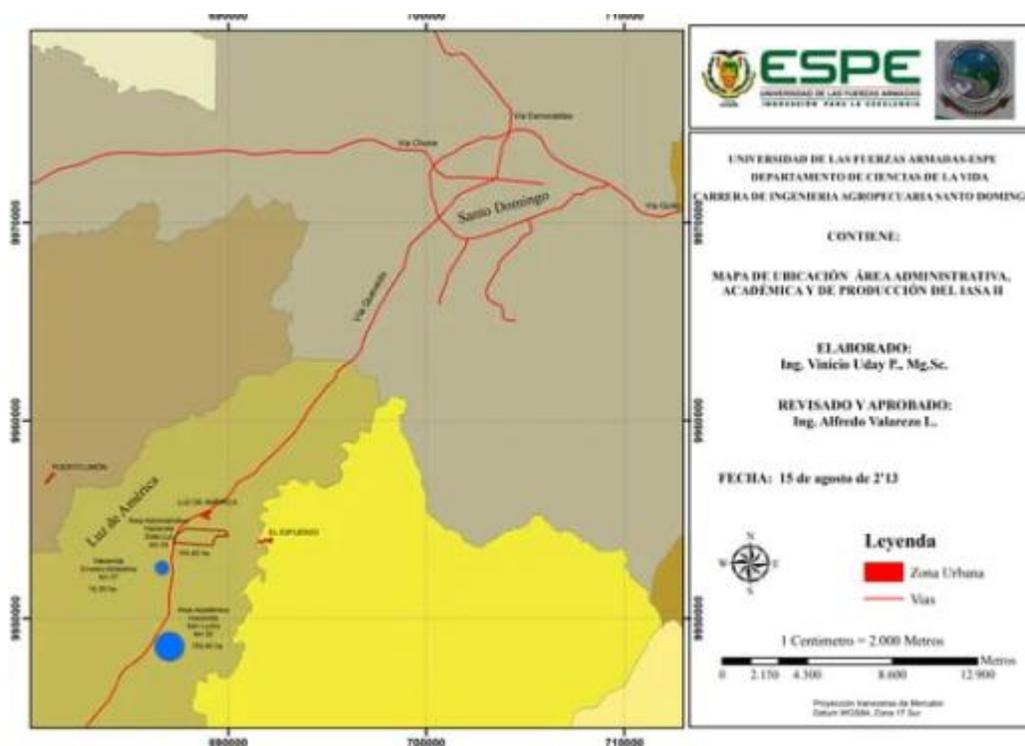
Latitud: 00°24'36"

Longitud: 79°18'43"

Altitud: 270 msnm

Figura 1

Mapa de ubicación geográfica del lugar de estudio



Materiales

Siembra de bacterias ácido lácticas

Tabla 5

Recursos utilizados para la siembra de BAL.

Equipos	Materiales/Insumos	Reactivos	Muestras
Balanza	Probeta	Agar MRS	Bacterias aisladas
Plancha magnética	Matraz Erlenmeyer	Agua destilada	
Autoclave	Asa bacteriológica		
Cámara de flujo laminar	Mechero		
Incubadora	Placas Petri		
	Frascos para medio		
	Parafilm		

Enriquecimiento selectivo de bacterias ácido lácticas

Tabla 6

Recursos utilizados para el enriquecimiento de BAL

Equipos	Materiales/Insumos	Reactivos	Muestras
Balanza	Probeta	Caldo MRS	Bacterias aisladas
Incubadora	Matraz Erlenmeyer	Agua destilada	
Autoclave	Algodón		
Cámara de flujo laminar	Mechero		

Elaboración de la solución bioconservante

Tabla 7

Recursos utilizados para la elaboración de la solución bioconservante

Equipos	Materiales/Insumos	Reactivos	Muestras
Cámara de flujo laminar	Tubos de ensayo	Caldo MRS	Caldo Enriquecido
Balanza	Mechero	Citrato de Sodio	
Incubadora	Vaso de precipitación	Ácido Cítrico	
Autoclave	Probeta	Agua destilada	
Centrífuga	Atomizador		
Potenciómetro	Micropipeta		
Espectrofotómetro			

Encapsulación de bacterias ácido lácticas

Tabla 8

Recursos utilizados en la encapsulación de bacterias ácido lácticas.

Equipos	Materiales/Insumos	Reactivos	Muestras
Balanza	Vasos de precipitación	Alginato de sodio	Solución
Cámara de flujo laminar	Micropipeta	Cloruro de calcio	Bioconservante
Plancha de agitación	Probeta	Agua destilada	
Refrigeradora	Papel filtro		

Recuento de poblaciones microbianas

Tabla 9

Recursos utilizados para el recuento de poblaciones microbianas.

Equipos	Materiales/Insumos	Reactivos	Muestras
Cámara de flujo laminar	Tubos de ensayo	Agua destilada	Zanahoria
Balanza	Mechero	Agua de peptona	Apio
Incubadora	Vasos de precipitación	Petrifilm	
Autoclave	Probeta	Alcohol al 96%	
Contador de colonias	Micropipeta		
Vortex			
Plancha magnética			

Determinación de pH

Tabla 10

Recursos utilizados para la determinación de pH.

Equipos	Materiales/Insumos	Reactivos	Muestras
Potenciómetro	Probeta (100 ml)	Agua destilada	Zanahoria
Balanza analítica	Pipeta (10 ml)		Apio
	Mortero y Pistilo		
	Vaso de precipitación (250 ml)		

Determinación de acidez titulable

Tabla 11

Recursos utilizados para la determinación de acidez titulable.

Equipos	Materiales/Insumos	Reactivos	Muestras
Potenciómetro	Probeta (100 ml)	Agua destilada	Zanahoria
Balanza analítica	Pipeta (10 ml)	NaOH 0.1 N	Apio
	Mortero y Pistilo		
	Vaso de precipitación (250 ml)		
	Soporte universal		
	Bureta graduada (25 ml)		

Determinación de humedad

Tabla 12

Recursos utilizados para la determinación de humedad.

Equipos	Materiales/Insumos	Muestras
Estufa	Papel Aluminio	Zanahoria
Balanza analítica	Cajas Petri	Apio

Determinación de cenizas

Tabla 13

Recursos utilizados para la determinación de cenizas.

Equipos	Materiales/Insumos	Muestras
Estufa	Papel Aluminio	Zanahoria
Balanza analítica	Cajas Petri	Apio
Mufla	Crisol	
	Pinzas	
	Desecador	

Métodos

Obtención de la materia prima

Las hortalizas utilizadas en la investigación se adquirieron en el Mercado Municipal de Santo Domingo de los Tsáchilas.

Siembra de bacterias ácido lácticas

Se realizaron los cálculos necesarios para la preparación suficiente de Agar, el mismo que fue calentado y llevado a ebullición, para posteriormente ser ubicado en la autoclave junto a los materiales a utilizar. Se procedió a limpiar la cámara de flujo laminar y se ubicaron los materiales dentro de ella.

Para realizar la siembra se tomó con el asa muestra de las placas aisladas y se procedió a ubicar por la técnica de estría en la placa nueva, luego de ello se selló la placa con parafilm y se incubó por 48 horas a una temperatura de 35 a 37°C.

Enriquecimiento selectivo de bacterias ácido lácticas

Para realizar el enriquecimiento bacteriano se tomó la metodología propuesta por (López Paredes, 2021) por lo cual se ubicó 27,58 gramos de caldo MRS en 500 ml de agua destilada y se inoculó con un asa las bacterias ácido lácticas; Posterior a ello se incubaron las bacterias durante 24 horas a 37 °C.

Bioconservación de las hortalizas

Preparación de la solución bacteriana

Para realizar la solución bacteriana se procedió a lavar con el buffer ácido cítrico – citrato de sodio (0,1M; pH 3,8) y luego se centrifugó a 5000 rpm durante 15 minutos, este procedimiento fue repetido 2 veces. Finalmente se cuantificó la carga bacteriana mediante densidad óptica, midiendo en un espectrofotómetro la absorbancia de la muestra a 500 nm.

Preparación de la Gelación iónica.

La elaboración de las emulsiones iónicas se basó en el procedimiento descrito por (López Colorado & Villalta Hernández, 2009), aplicando algunas modificaciones en su proceso.

Para ello se tomó 2 g de Alginato de sodio y se disolvió en 50 ml de la solución bioconservante y seguidamente se diluyó 15 g de cloruro de calcio en 100 ml de agua destilada. Con ayuda de una micropipeta se fueron liberando las gotas de alginato en la solución de cloruro de calcio que se encontraba en una ligera agitación.

Preparación de la muestra.

Las hortalizas de la investigación fueron lavadas en primer lugar por agua destilada y posterior a ello se realizó un segundo lavado con ácido cítrico al 2%; las mismas fueron ubicadas en sus respectivos recipientes totalmente estériles y se procedió a ubicar el método correspondiente, estas se conservaron durante 8 días en refrigeración.

Diseño Experimental

Factores de estudio

Tabla 14

Factores y niveles a probar en el estudio de la bioconservación de zanahoria y apio, utilizando dos métodos de aplicación de bacterias ácido lácticas.

Factores	Simbología	Niveles
	a0	Zanahoria
Hortalizas (A)	a1	Apio
	b0	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
	b1	<i>Lactobacillus plantarum</i>
Bacterias ácido lácticas (B)	b2	<i>Lactococcus lactis</i>
	c0	Gelación iónica
Métodos (C)	c1	Roció

Tratamientos de estudio

Tabla 15

Tratamiento a comparar en el estudio de la bioconservación de zanahoria y apio, utilizando dos métodos de aplicación de bacterias ácido lácticas.

N.º	Interacciones	Unidades Experimentales
T1	a0b0c0	Zanahoria + <i>Leuconostoc mesenteroides</i> + Gelación Iónica
T2	a0b0c1	Zanahoria + <i>Leuconostoc mesenteroides</i> + Rocío
T3	a0b1c0	Zanahoria + <i>Lactobacillus plantarum</i> + Gelación Iónica
T4	a0b1c1	Zanahoria + <i>Lactobacillus plantarum</i> + Rocío
T5	a1b0c0	Zanahoria + <i>Lactococcus lactis</i> + Gelación Iónica
T6	a1b0c1	Zanahoria + <i>Lactococcus lactis</i> + Rocío
T7	a1b1c0	Apio + <i>Leuconostoc mesenteroides</i> + Gelación Iónica
T8	a1b1c1	Apio + <i>Leuconostoc mesenteroides</i> + Rocío
T9	a2b0c0	Apio + <i>Lactobacillus plantarum</i> + Gelación Iónica
T10	a2b0c1	Apio + <i>Lactobacillus plantarum</i> + Rocío
T11	a2b1c0	Apio + <i>Lactococcus lactis</i> + Gelación Iónica
T12	a2b1c1	Apio + <i>Lactococcus lactis</i> + Rocío

Tipo de diseño

En el presente estudio se realizó un análisis estadístico basado en ANOVA, el cual presenta un arreglo factorial $A \times B \times C$, en donde el factor A hace énfasis a las Hortalizas, el factor B corresponde a las bacterias ácido lácticas y el factor C a los métodos de aplicación utilizadas en la investigación.

Repeticiones

En el diseño se consideraron 3 repeticiones para cada tratamiento, obteniendo un total de 36 unidades experimentales.

Análisis estadístico

Tabla 16

Esquema de análisis de varianza para el estudio de la bioconservación de Zanahoria y Apio, a partir de dos métodos de aplicación de bacterias ácido lácticas.

Fuente de variación		Grados de libertad
Hortalizas	a-1	1
Bacterias ácido lácticas	b-1	2
Métodos	c-1	1
Hortaliza x Bacteria	(a-1) (b-1)	2
Hortaliza x Método	(a-1) (c-1)	1
Bacteria x Método	(b-1) (c-1)	2
Hortaliza x Bacteria x Método	(a-1) (b-1) (c-1)	2
Réplica	r-1	2
Error Experimental		22
Total		35

Análisis funcional

En el análisis de varianza del presente estudio se evaluaron los resultados significativos de cada variable analizada aplicando una prueba de significación Tukey ($p < 0,05$).

Variables evaluadas

Determinación de pH

Para la determinación del pH de las hortalizas se utilizó la metodología propuesta por la norma (NTE INEN, 1985)

Para ello se procedió a agregar 10 g de la muestra y se mezcló con 100 ml de agua destilada homogeneizando seguidamente.

Para determinar el pH se ubicó el potenciómetro dentro del vaso y al presenciar la estabilidad se tomó el resultado.

Determinación de la acidez titulable

Para la determinación de la acidez titulable de las hortalizas, se utilizó la metodología propuesta por la norma (NTE INEN 3., 1985)

Se procedió a triturar las hortalizas en un mortero y se pesaron 25 g de la misma, seguidamente se agregaron 50 ml de agua destilada caliente, esto se calentó en baño de agua durante 30 minutos, luego de ello se enfrió y transfirió a un matraz de 250 ml y se diluyó a volumen con agua destilada previamente hervida y enfriada. Posteriormente se filtró y se ubicó en un vaso de precipitación.

De la muestra filtrada se procedió a tomar 25 ml y se midió el pH. Se tituló la muestra con hidróxido de sodio al 0.1 N, hasta alcanzar un pH de 8.3 aproximadamente y se registró el volumen consumido.

La acidez se determinó mediante la ecuación

$$A = \frac{V1 N1 M}{V2}$$

Donde:

A = valor de la acidez en gramos.

V1= mL de NaOH utilizados en la titulación.

N1= normalidad del valorante.

M= masa molecular del ácido de referencia. Para el ácido láctico = 0.090.

V2= volumen de la muestra utilizada para el análisis

Determinación de Humedad

Para la determinación de la humedad se realizó la metodología propuesta por (NTE INEN 3., 2013)

Los recipientes fueron previamente calentados en la estufa por 30 minutos, posterior a ellos se procedió a pesar el recipiente vacío y a continuación se le agregó 10 gramos de la muestra y se pesó. Esto se ubicó en la estufa durante 3 horas a temperatura de 130°C y transcurrido este tiempo se procedió a pesar el recipiente con la muestra seca.

Para la determinación de la humedad se utilizó la siguiente fórmula:

$$H (\%) = \frac{W2 - W1}{W} * 100$$

Donde:

H: Valor de la humedad

W: Peso de la muestra en gramos

W1: Peso del crisol más la muestra después del secado.

W2: Peso del crisol más la muestra antes del secado.

Determinación de cenizas

Para la determinación de cenizas se procedió a pesar 2 g de muestra seca, se agregó a la mufla durante 3 horas a 600°C y se pesó nuevamente, posterior a ello se aplicó la siguiente fórmula con los datos obtenidos

$$C (\%) = \frac{W_2 - W_1}{W} * 100$$

Donde:

C: Valor de ceniza

W: Peso de la muestra en gramos

W1: Peso del crisol vacío

W2: Peso del crisol más la muestra calcinada

Recuento de poblaciones microbianas

Para la determinación de las unidades formadoras de colonias se procedió a realizar la siguiente metodología:

Se homogeneizó el agua peptona con el agua destilada, para seguidamente colocar 9 ml de la mezcla en tubos de ensayo según el factor de dilución y se llevó a autoclavar.

Posterior a ello se agregó 1 gramo de la muestra en 18 ml de agua peptona, se inoculó 1 ml y se realizaron diluciones seriadas con agua peptona hasta el 10⁻⁴; a continuación, se tomó 1 ml de la dilución y se agregó al Petri film de manera cuidadosa.

Los petrifilm de aerobios fueron inoculados a 37°C durante 48 horas, mientras que los petrifilm de mohos y levaduras fueron inoculados a temperatura ambiente durante 72 horas.

Para finalizar se realizó el conteo de colonias y se aplicó la siguiente fórmula:

$$\text{Recuento} \left(\frac{\text{UFC}}{\text{ml}} \right) = \frac{\text{Número de colonias} * \text{Inverso del factor de dilución}}{\text{Volumen inoculado}}$$

Análisis sensorial

Se realizó una prueba hedónica a 10 personas inexpertas, mismas que evaluaron los parámetros de: olor, color y textura de los distintos tratamientos utilizados en el estudio.

Capítulo IV

Resultados

Análisis de varianza

Análisis de varianza para el estudio de la bioconservación de hortalizas, a partir de dos métodos de aplicación de bacterias ácido lácticas

Análisis de varianza para pH.

Tabla 17

Análisis de varianza para pH a los 10 días de bioconservación de la hortaliza.

Fuente	SC	GI	CM	Razón-F	Valor-P
EFECTOS PRINCIPALES					
A: Hortalizas	0,907256	1	0,907256	47,81	0,0000
B: Bacteria	0,459687	2	0,229844	12,11	0,0003
C: Método	9,81256	1	9,81256	517,05	0,0000
D: Replica	0,113437	2	0,0567187	2,99	0,0711
INTERACCIONES					
AB	0,0495375	2	0,0247687	1,31	0,2913
AC	0,247506	1	0,247506	13,04	0,0015
BC	0,109662	2	0,0548312	2,89	0,0769
ABC	0,144462	2	0,0722312	3,81	0,0381
RESIDUOS	0,417513	22	0,0189778		
TOTAL (CORREGIDO)	12,2616	35			

La tabla 16, indica diferencia significativa para el Factor A (Hortalizas), Factor B (Bacteria), Factor C (Método) y las Interacciones AC y ABC; mientras que las Interacciones AB, BC y las réplicas no muestran diferencia significativa.

Análisis de varianza para acidez.

Tabla 18

Análisis de varianza para acidez a los 10 días de bioconservación de la hortaliza.

Fuente	SC	GI	CM	Razón-F	Valor-P
EFECTOS PRINCIPALES					
A: Hortalizas	0,104976	1	0,104976	7,06	0,0144
B: Bacteria	0,039366	2	0,019683	1,32	0,2863
C: Método	1,89613	1	1,89613	127,59	0,0000
D: Replica	0,0535815	2	0,0267907	1,80	0,1884
INTERACCIONES					
AB	0,367416	2	0,183708	12,36	0,0003
AC	0,531441	1	0,531441	35,76	0,0000
BC	0,249318	2	0,124659	8,39	0,0020
ABC	0,157464	2	0,078732	5,30	0,0132
RESIDUOS	0,326956	22	0,0148617		
TOTAL (CORREGIDO)	3,72665	35			

En la tabla 17 se muestra diferencia significativa para el Factor A (Hortalizas), Factor C (Método) y las Interacciones AB, AC, BC y ABC. Mientras que el Factor B (Bacteria) y las réplicas no indican diferencia significativa.

Análisis de varianza para humedad.

Tabla 19

Análisis de varianza para humedad a los 10 días de bioconservación de la hortaliza.

Fuente	SC	GI	CM	Razón-F	Valor-P
EFECTOS PRINCIPALES					
A: Hortalizas	6,43637	1	6,43637	1,22	0,2807
B: Bacteria	2,27168	2	1,13584	0,22	0,8076
C: Método	9,97928	1	9,97928	1,90	0,1823
D: Replica	7,15464	2	3,57732	0,68	0,5171
INTERACCIONES					
AB	51,0052	2	25,5026	4,85	0,0180
AC	1,04653	1	1,04653	0,20	0,6600
BC	9,31805	2	4,65903	0,89	0,4268
ABC	3,84932	2	1,92466	0,37	0,6978
RESIDUOS	115,775	22	5,2625		
TOTAL (CORREGIDO)	206,836	35			

En la tabla 18 se encontró diferencia significativa para la interacción AB. Mientras que el Factor A (Hortalizas), Factor B (Bacteria), Factor C (Método), las réplicas y las Interacciones AC, BC y ABC no indican diferencia significativa.

Análisis de varianza para cenizas.

Tabla 20

Análisis de varianza para cenizas a los 10 días de bioconservación de la hortaliza.

Fuente	SC	GI	CM	Razón-F	Valor-P
EFECTOS PRINCIPALES					
A: Hortalizas	339,303	1	339,303	105,95	0,0000
B: Bacteria	0,147272	2	0,0736362	0,02	0,9773
C: Método	0,0891022	1	0,0891022	0,03	0,8690
D: Replica	0,578631	2	0,289316	0,09	0,9140
INTERACCIONES					
AB	0,826491	2	0,413246	0,13	0,8796
AC	12,1789	1	12,1789	3,80	0,0640
BC	0,290921	2	0,145461	0,05	0,9557
ABC	2,08547	2	1,04274	0,33	0,7255
RESIDUOS	70,4521	22	3,20237		
TOTAL (CORREGIDO)	425,951	35			

La tabla 19 indica diferencia significativa para el Factor A (Hortalizas). Mientras que el Factor B (Bacteria), el Factor C (Método), las réplicas y las Interacción AB, AC, BC y ABC no indican diferencia significativa.

Resultados de la evaluación del efecto de la aplicación de las bacterias ácido lácticas conservadas para la bioprotección de dos productos agrícolas mínimamente procesados en fresco (MPF); zanahoria y apio. Tukey ($p < 0,05$)

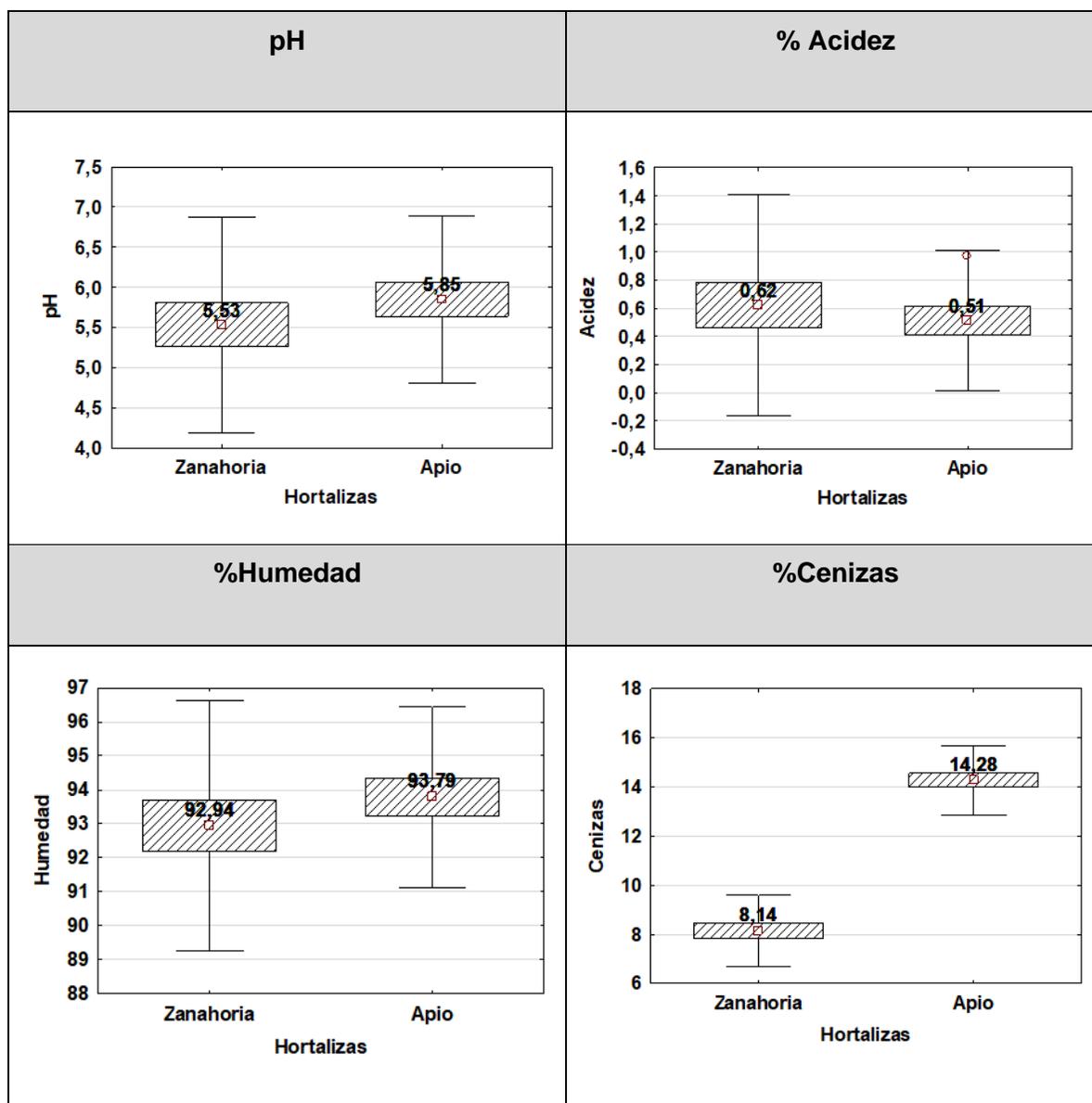
Tabla 21

Prueba de significación de Tukey ($p < 0,05$) para resultados de análisis fisicoquímicos (Factor A: Hortalizas)

Hortalizas	pH	% Acidez	Humedad	Cenizas
A0: Zanahoria	5,53 ^A	0,62 ^B	92,94 ^A	8,14 ^A
A1: Apio	5,85 ^B	0,51 ^A	93,79 ^A	14,28 ^B

Figura 2

Efecto de las hortalizas (Factor A) a los 10 días de bioconservación en las distintas variables de estudio.



En la figura 2, se observa que en pH se generaron dos grupos independientes, en donde el Grupo A: Zanahoria presentó valor de 5,53; mientras que el Grupo B: Apio indicó valor de 5,85.

Para acidez, se conformaron dos grupos independientes, en donde el Grupo B: Zanahoria indicó valor de 0,62; mientras que el Grupo A: Apio mostró valor de 0,51.

En la humedad, se formó un grupo homogéneo en donde el Grupo A: Zanahoria, Apio presentó valores 92,94 y 93,79 respectivamente.

Para cenizas, se indicó la formación de dos grupos independientes, en donde el Grupo A: Zanahoria mostró valor de 8,14; mientras que el Grupo B: Apio indicó valor de 14,28.

Resultados de la Evaluación de los análisis fisicoquímicos de la eficacia de las bacterias ácido lácticas como conservante, considerando tres géneros distintos: *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus plantarum* y *Lactococcus lactis*, en productos agrícolas MPF. Tukey ($p < 0,05$)

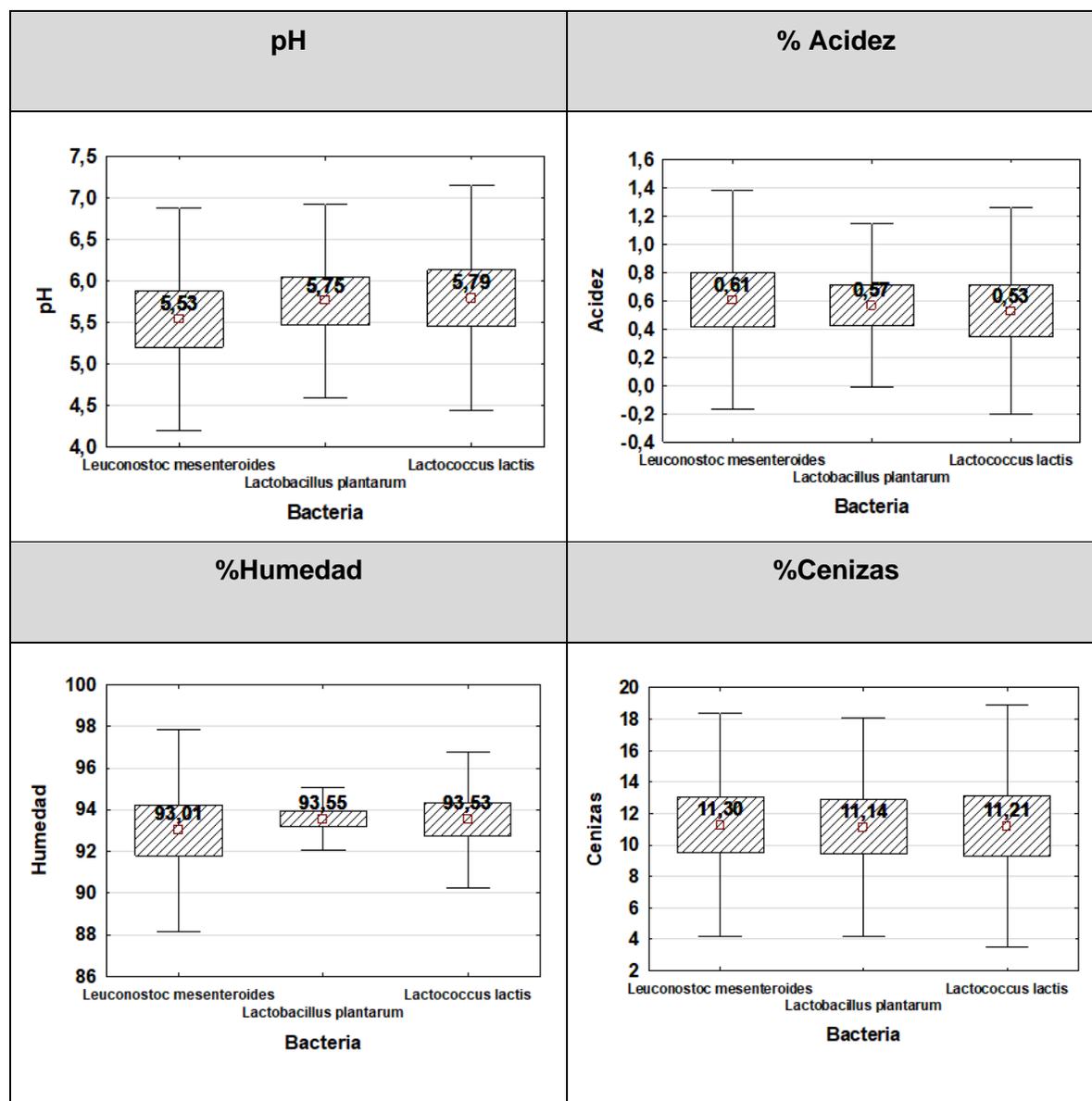
Tabla 22

Prueba de significación de Tukey ($p < 0,05$) para resultados de análisis fisicoquímicos (Factor B: Bacterias ácido lácticas)

Tipos de bacterias	pH	Acidez	Humedad	Cenizas
B0: <i>Leuconostoc mesenteroides</i>	5,53 ^A	0,61 ^A	93,01 ^A	11,30 ^A
B1: <i>Lactobacillus plantarum</i>	5,75 ^A	0,57 ^A	93,55 ^A	11,14 ^A
B2: <i>Lactococcus lactis</i>	5,79 ^A	0,53 ^A	93,53 ^A	11,21 ^A

Figura 3

Efecto de las Bacterias (Factor B) a los 10 días de bioconservación en las distintas variables de estudio.



La figura 3, nos indica que en pH se formó un grupo homogéneo en donde el Grupo A: *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactococcus lactis* mostraron valores de 5,53, 5,75 y 5,79 respectivamente.

Para la acidez se formó un grupo homogéneo en donde el Grupo A: *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactococcus lactis* indican valores de 0,61, 0,57 y 0,53 respectivamente.

La humedad indica un grupo homogéneo en donde el Grupo A: *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactococcus lactis* indican valores de 93,01, 93,55 y 93,53 respectivamente.

Para la ceniza se conformó un grupo homogéneo en donde el Grupo A: *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactococcus lactis* indican valores de 11,30, 11,14 y 11,21 respectivamente.

Resultados de la evaluación de la eficacia de distintos métodos de conservación de bacterias ácido lácticas: Gelación iónica y Rocio. Tukey ($p < 0,05$)

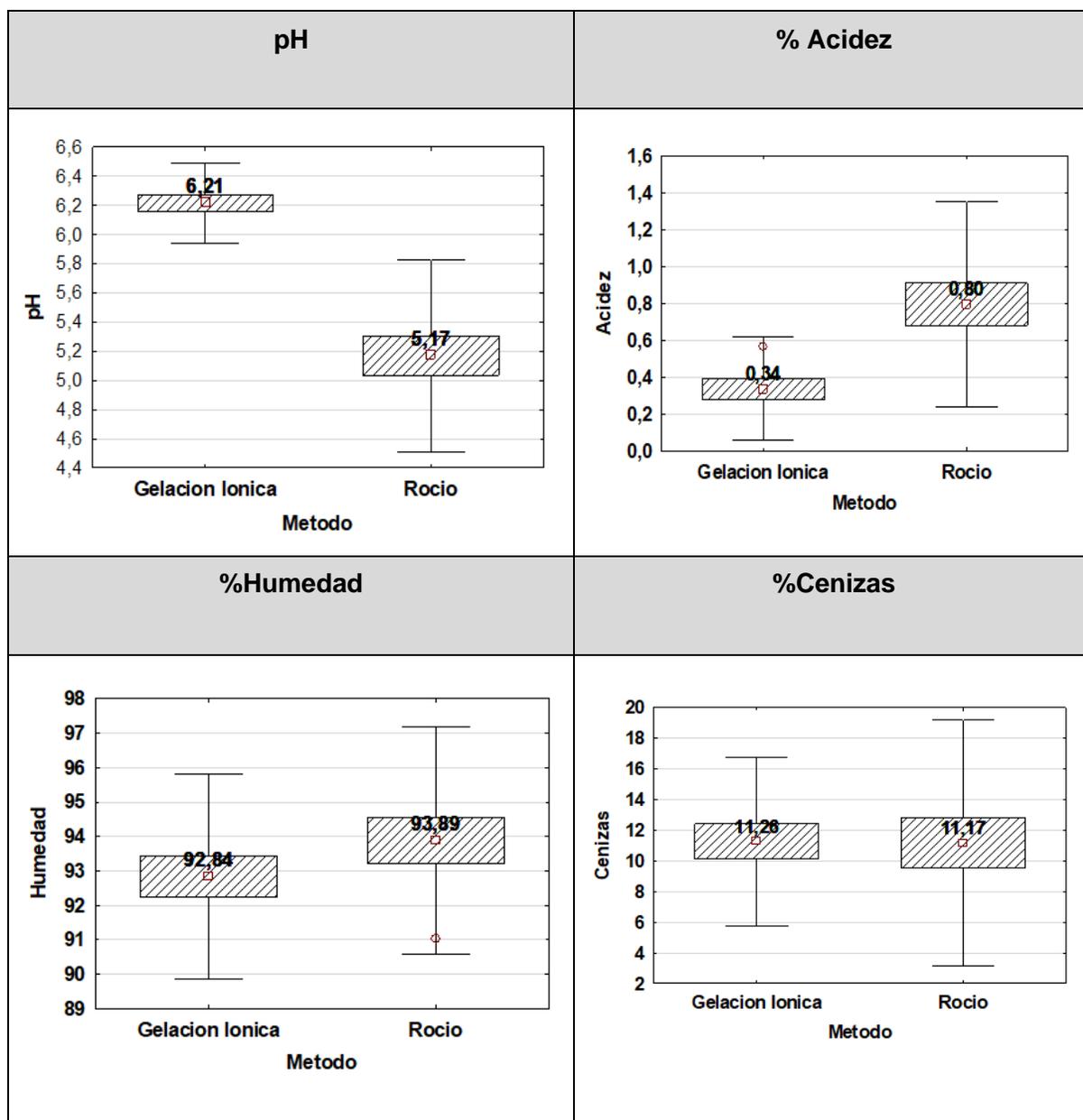
Tabla 23

Prueba de significación de Tukey ($p < 0,05$) para resultados de análisis fisicoquímicos (Factor C: Métodos)

Métodos	pH	Acidez	Humedad	Cenizas
C0: Gelación Iónica	6,21 ^B	0,34 ^A	92,84 ^A	11,26 ^A
C1: Roció	5,17 ^A	0,80 ^B	93,89 ^A	11,17 ^A

Figura 4

Efecto de los tipos de métodos de aplicación (Factor C) a los 10 días de bioconservación en las distintas variables de estudio.



La figura 4, nos indica que en pH se dio la conformación de dos grupos independientes, en donde el Grupo A: Rocío, presentó valor de 5,17; mientras que el Grupo B: Gelación Iónica indica valor de 6,21.

Para acidez, se determinó dos grupos independientes en donde el Grupo A: Gelación Iónica indica valor de 0,34; mientras que el Grupo B: Rocío, mostró valor de 0,80.

Para la humedad, se formó un grupo homogéneo, en donde el Grupo A: Gelación lónica, Rocío presentaron valores de 11,26 y 11,17 respectivamente.

Para cenizas se determinó la formación de un grupo homogéneo, en donde el Grupo A: Gelación lónica, Rocío presentaron valores de 92,84 y 93,89 respectivamente.

Prueba de Tukey ($p < 0,05$) para la interacción significativa de las (Hortalizas*Bacterias ácido lácticas*Métodos), para las distintas variables de estudio.

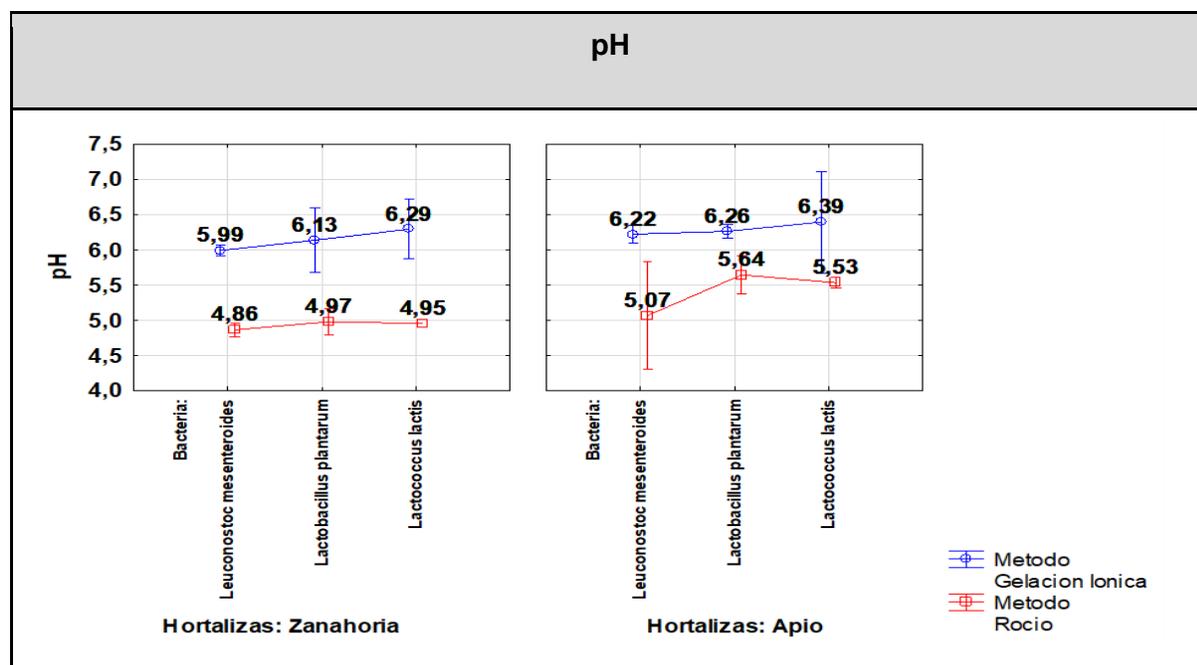
Tabla 24

*Prueba de significación de Tukey ($p < 0,05$) a los 10 días de bioconservación, para resultados de análisis fisicoquímicos (Interacción A*B*C)*

Interacciones	pH	Acidez	Humedad	Cenizas
a0b0c0: Zanahoria+ <i>Leuconostoc mesenteroides</i> + Gelación lónica	5,99 ^{CD}	0,16 ^A	90,81 ^A	8,65 ^{AB}
a0b0c1: Zanahoria+ <i>Leuconostoc mesenteroides</i> +Rocio	4,86 ^A	0,89 ^{CD}	91,03 ^A	7,82 ^A
a0b1c0: Zanahoria+ <i>Lactobacillus plantarum</i> + Gelación lónica	6,14 ^D	0,32 ^{AB}	94,20 ^A	9,12 ^{ABC}
a0b1c1: Zanahoria + <i>Lactobacillus plantarum</i> + Rocío	4,98 ^A	0,97 ^D	93,26 ^A	7,38 ^A
a0b2c0: Zanahoria+ <i>Lactococcus lactis</i> +Gelación lónica	6,29 ^D	0,32 ^{AB}	92,75 ^A	8,56 ^{AB}
a0b2c1: Zanahoria + <i>Lactococcus lactis</i> + Rocío	4,95 ^A	1,05 ^D	95,59 ^A	7,34 ^A
a1b0c0: Apio+ <i>Leuconostoc mesenteroides</i> + Gelación lónica	6,22 ^D	0,41 ^{AB}	94,82 ^A	14,27 ^{CD}
a1b0c1: Apio+ <i>Leuconostoc mesenteroides</i> +Rocio	5,07 ^A	0,97 ^D	95,37 ^A	14,45 ^D
a1b1c0: Apio+ <i>Lactobacillus plantarum</i> + Gelación lónica	6,26 ^D	0,57 ^{BC}	92,62 ^A	13,25 ^{BCD}
a1b1c1: Apio + <i>Lactobacillus plantarum</i> + Rocío	5,64 ^{BC}	0,41 ^{AB}	94,12 ^A	14,81 ^D
a1b2c0: Apio + <i>Lactococcus lactis</i> + Gelación lónica	6,39 ^D	0,24 ^{AB}	91,83 ^A	13,75 ^{BCD}
a1b2c1: Apio + <i>Lactococcus lactis</i> + Rocío	5,53 ^B	0,49 ^{AB}	93,96 ^A	15,19 ^D

Figura 5

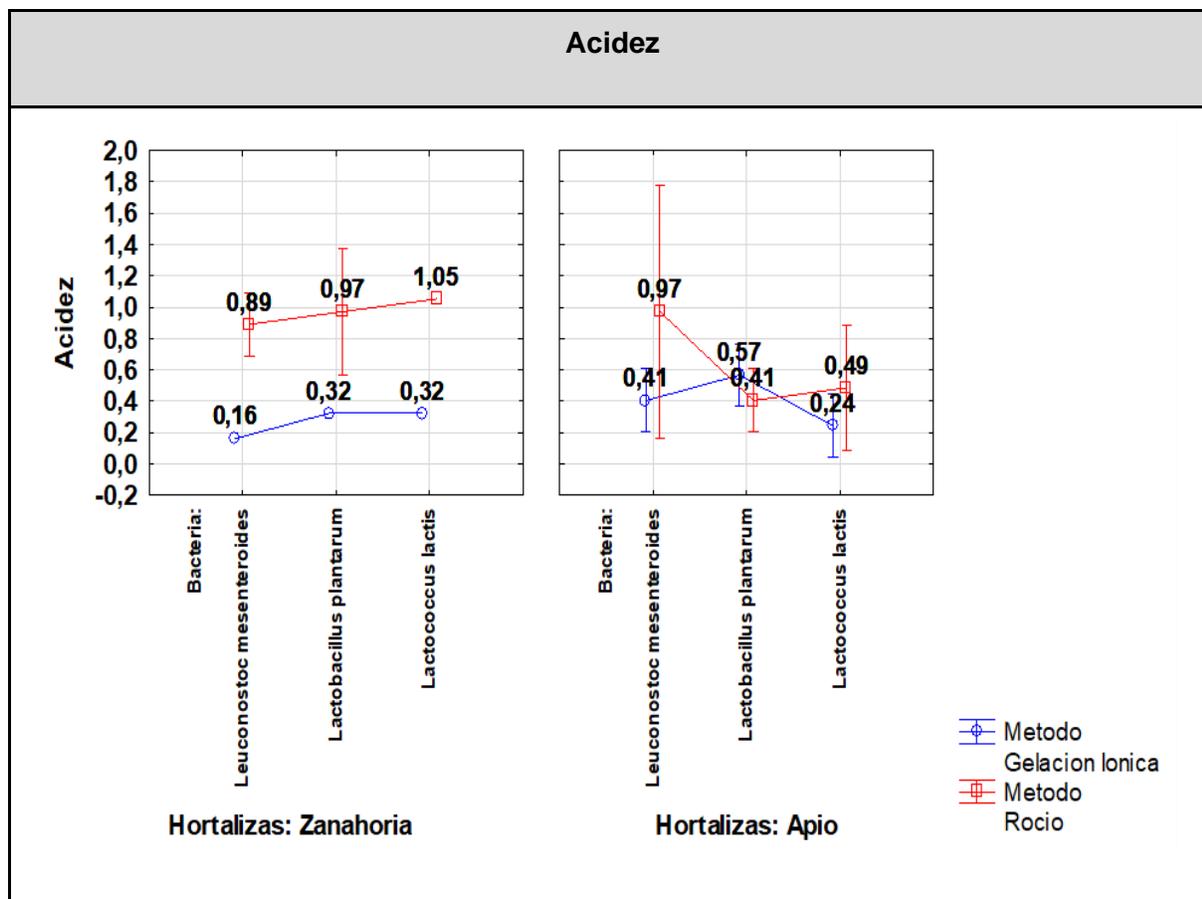
Efecto de la interacción A*B*C de la variable pH a los 10 días de bioconservación.



En la figura 5, se indica la interacción A*B*C, en donde pH, indicó la formación del Grupo A: Zanahoria + *Leuconostoc mesenteroides* + Rocío (4,86), Zanahoria + *Lactobacillus plantarum* + Rocío (4,98), Zanahoria + *Lactococcus lactis* + Rocío (4,95), Apio + *Leuconostoc mesenteroides* + Rocío (5,07), siendo estos valores menores a los del Grupo D: Zanahoria+*Leuconostoc mesenteroides*+Gelación Iónica(5,99), Zanahoria + *Lactobacillus plantarum* + Gelación Iónica (6,14), Zanahoria + *Lactococcus lactis* + Gelación Iónica (6,29), Apio + *Leuconostoc mesenteroides* + Gelación Iónica (6,22), Apio + *Lactobacillus plantarum* + Gelación Iónica (6,26), Apio + *Lactococcus lactis* + Gelación Iónica (6,39)

Figura 6

Efecto de la interacción A*B*C de la variable acidez a los 10 días de bioconservación.

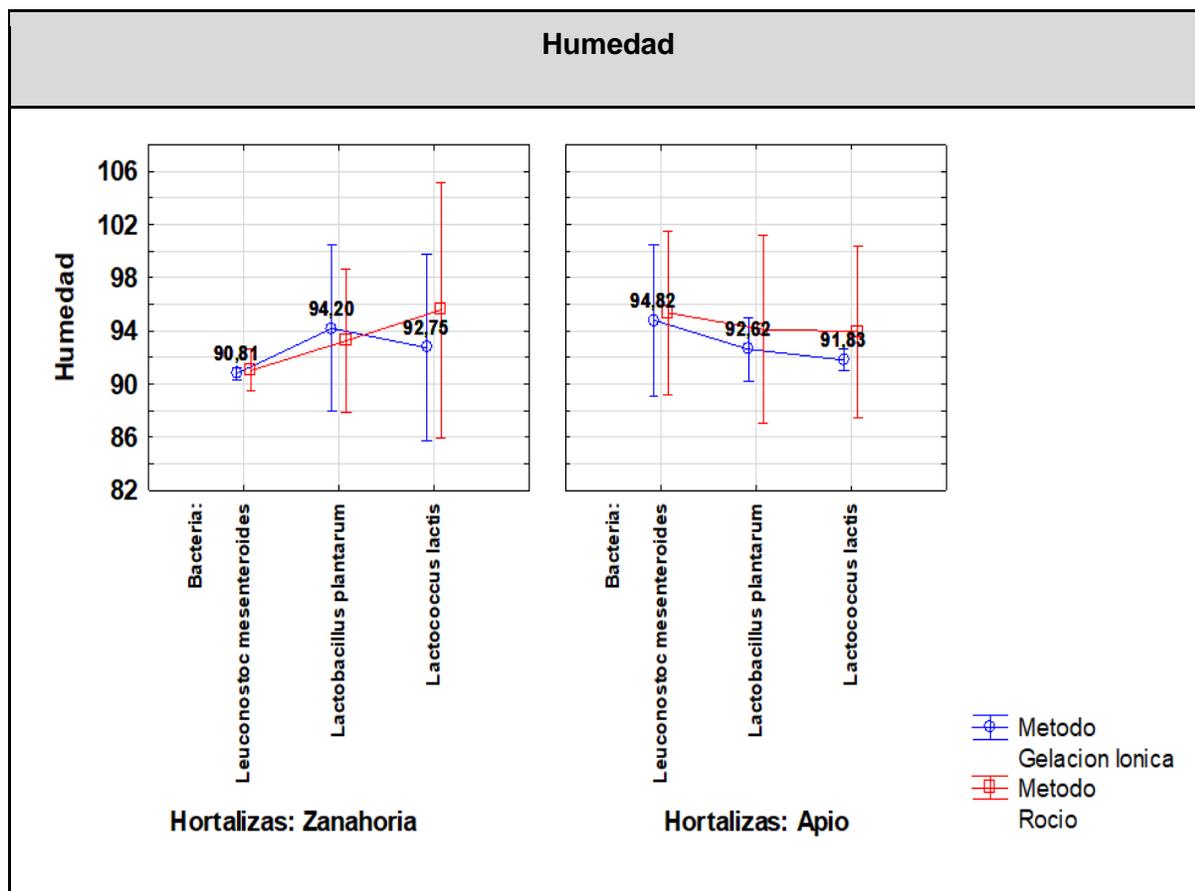


La figura 6, nos indica la Interacción A*B*C, en donde acidez presenta la formación del Grupo A: Zanahoria+*Leuconostoc mesenteroides*+Gelación Iónica (0,16), Zanahoria + *Lactobacillus plantarum* + Gelación Iónica (0,32), Zanahoria + *Lactococcus lactis* + Gelación Iónica (0,32), Apio + *Leuconostoc mesenteroides* + Gelación Iónica (0,41), Apio + *Lactobacillus plantarum* + Rocío (0,41), Apio + *Lactococcus lactis* + Gelación Iónica (0,24), Apio + *Lactococcus lactis* + Rocío (0,49), indicando valores menores al Grupo D: Zanahoria + *Leuconostoc mesenteroides* + Rocío (0,89), Zanahoria + *Lactobacillus plantarum* + Rocío (

0,97), Zanahoria + *Lactococcus lactis* + Rocío (1,05), Apio + *Leuconostoc mesenteroides* + Rocío (0,97)

Figura 7

*Efecto de la interacción A*B*C de la variable humedad a los 10 días de bioconservación.*

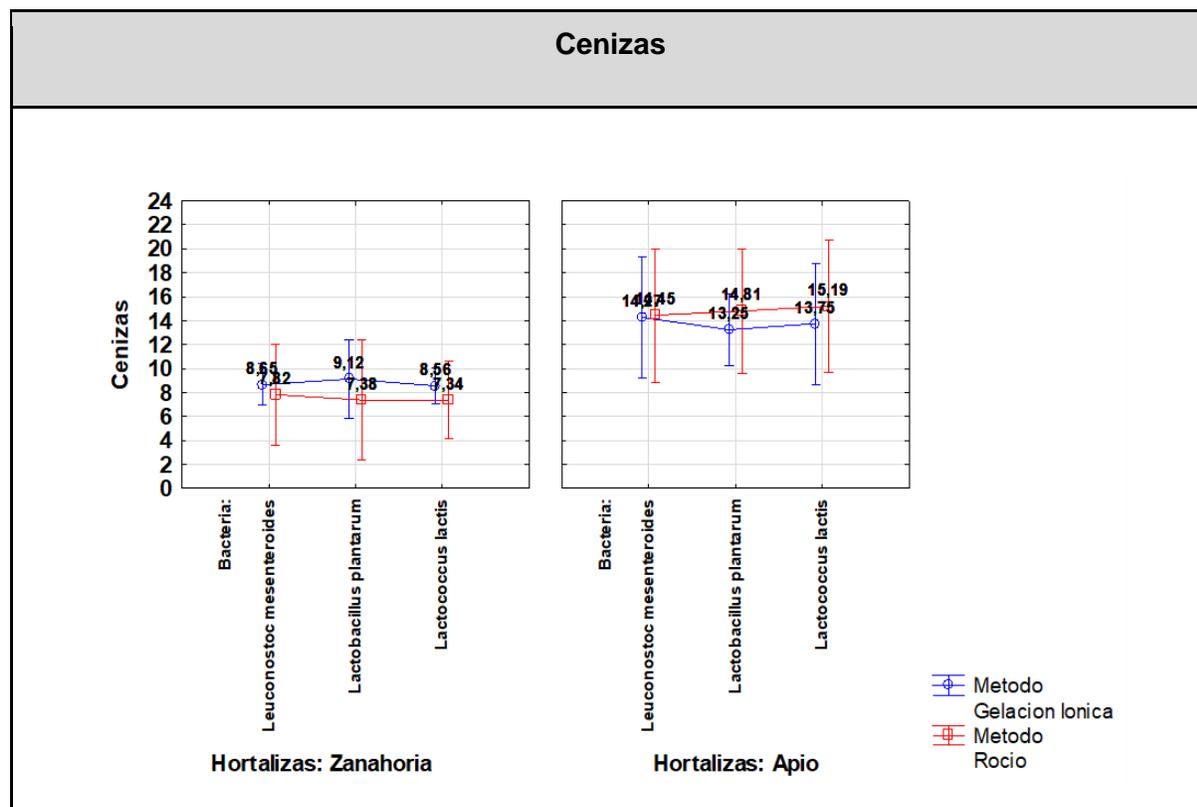


La figura 7, indica la Interacción A*B*C, en donde humedad presenta la formación de un grupo homogéneo Grupo A: Zanahoria+*Leuconostoc mesenteroides*+Gelación Iónica (90,81), Zanahoria + *Leuconostoc mesenteroides* + Rocío (91,03), Zanahoria + *Lactobacillus plantarum* + Gelación Iónica (94,20), Zanahoria + *Lactobacillus plantarum* + Rocío (93,26), Zanahoria + *Lactococcus lactis* + Gelación Iónica (92,75), Zanahoria + *Lactococcus lactis* + Rocío (95,59), Apio + *Leuconostoc mesenteroides* + Gelación Iónica (94,82), Apio + *Leuconostoc mesenteroides* + Rocío (95,37), Apio + *Lactobacillus plantarum* + Gelación Iónica (92,62),

Apio + *Lactobacillus plantarum* + Rocío (94,12), Apio + *Lactococcus lactis* + Gelación Iónica (91, 83), Apio + *Lactococcus lactis* + Rocío (93, 96).

Figura 8

Efecto de la interacción A*B*C de la variable cenizas a los 10 días de bioconservación.



La figura 8, indica la Interacción A*B*C, en donde cenizas presentó la formación del Grupo A: Zanahoria + *Leuconostoc mesenteroides* + Gelación Iónica (8,65), Zanahoria + *Leuconostoc mesenteroides* + Rocío (7,82), Zanahoria + *Lactobacillus plantarum* + Gelación Iónica (9,12), Zanahoria + *Lactobacillus plantarum* + Rocío (7,38), Zanahoria + *Lactococcus lactis* + Gelación Iónica (8,56), Zanahoria + *Lactococcus lactis* + Rocío (7,34), el cual presentó valores menores al Grupo D: Apio + *Leuconostoc mesenteroides* + Gelación Iónica (14,27), Apio + *Leuconostoc mesenteroides* + roció (14,45), Apio + *Lactobacillus plantarum* + Gelación Iónica (13,25), Apio + *Lactobacillus plantarum* + Rocío (14,81), Apio + *Lactococcus lactis* + Gelación Iónica (13,75), Apio + *Lactococcus lactis* + Rocío (15,19).

Parámetro microbiológico en las hortalizas

Recuento de bacterias aerobias y mohos/levaduras para determinar mediante análisis microbiológicos la eficacia de las bacterias ácido lácticas como conservante, en productos agrícolas MPF.

Tabla 25

Recuento de bacterias aerobias y mohos/levaduras a los 10 días de la bioconservación de las hortalizas.

Tratamiento	Dia 10	
	Aerobios	Mohos y levaduras
Zanahoria + Leuconostoc mesenteroides + Gelación Iónica	1.60E+01 UFC/mL	0
Zanahoria + Leuconostoc mesenteroides + Rocío	1.20E+01 UFC/mL	0
Zanahoria + Lactobacillus plantarum + Gelación Iónica	1.60E+01 UFC/mL	0
Zanahoria + Lactobacillus plantarum + Rocío	1.60E+01 UFC/mL	0
Zanahoria + Lactococcus lactis + Gelación Iónica	1.20E+01 UFC/mL	0
Zanahoria + Lactococcus lactis + Rocío	8.00E+00 UFC/mL	0
Apio + Leuconostoc mesenteroides + Gelación Iónica	8.00E+00 UFC/mL	0
Apio + Leuconostoc mesenteroides + Rocío	1.60E+01 UFC/mL	0
Apio + Lactobacillus plantarum + Gelación Iónica	1.20E+01 UFC/mL	0
Apio + Lactobacillus plantarum + Rocío	4.00E+00 UFC/mL	0
Apio + Lactococcus lactis + Gelación Iónica	1.20E+01 UFC/mL	0
Apio + Lactococcus lactis + Rocío	1.60E+01 UFC/mL	0

La tabla 25 nos indica los valores del análisis microbiológico a los distintos tratamientos, en donde se puede observar la presencia de Unidades formadoras de colonias en aerobios; de igual forma se puede observar la lectura para mohos y levaduras en donde no se registró crecimiento de bacterias patógenos en los tratamientos evaluados.

Análisis de conglomerados

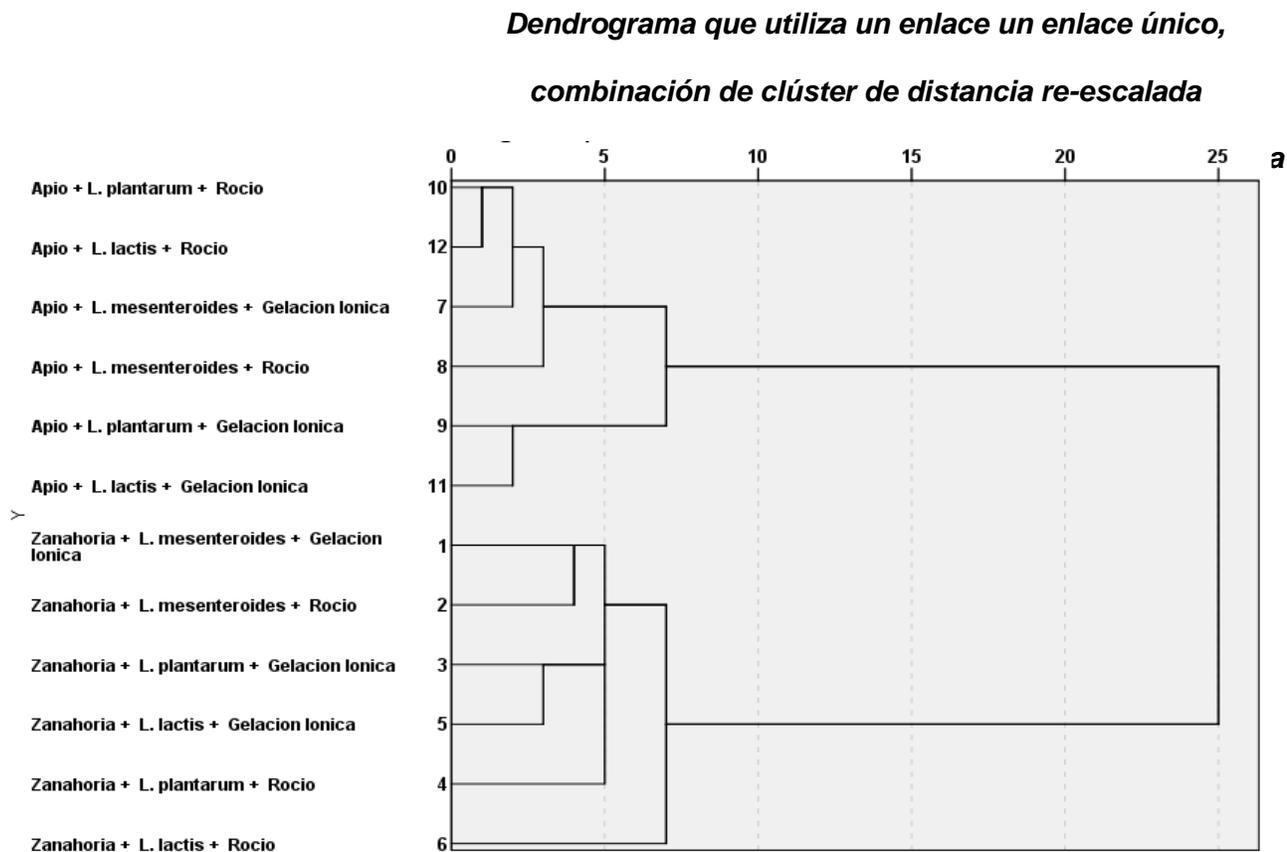
Tabla 26

Historial de conglomeración

Etapa	Clúster combinado			Primera aparición del clúster de etapa		Etapa siguiente
	Clúster 1	Clúster 2	Coefficientes	Clúster 1	Clúster 2	
1	10	12	,187	0	0	3
2	9	11	,999	0	0	9
3	7	10	1,125	0	1	4
4	7	8	1,994	3	0	9
5	3	5	2,444	0	0	7
6	1	2	2,554	0	0	8
7	3	4	3,799	5	0	8
8	1	3	3,867	6	7	10
9	7	9	5,098	4	2	11
10	1	6	5,446	8	0	11
11	1	7	19,582	10	9	0

Figura 9

Dendrograma para los factores de estudio



En la figura 9, se indica el dendrograma de vecinos cercanos que fue aplicado para los distintos tratamientos de estudio en donde se incluyen las variables fisicoquímicas (pH, acidez, humedad y cenizas), en el cual se observa valores cercanos entre los tratamientos Zanahoria+*L.mesenteroides*+rocío con Zanahoria+*L.mesenteroides*+Gelación Iónica y Zanahoria+*L. plantarum*+Gelación Iónica; mientras que el tratamiento Apio+*L. plantarum*+rocío indica menos similitud a los tratamientos.

Análisis de componentes principales

Tabla 27

Matriz de correlación de componentes principales

Matriz de correlaciones					
		pH	Acidez	Humedad	Cenizas
Correlación	pH	1,000	-,880	-,241	,318
	Acidez	-,880	1,000	,389	-,283
	Humedad	-,241	,389	1,000	,291
	Cenizas	,318	-,283	,291	1,000

La tabla 27, indica que el pH presenta una correlación inversa a la acidez.

Tabla 28

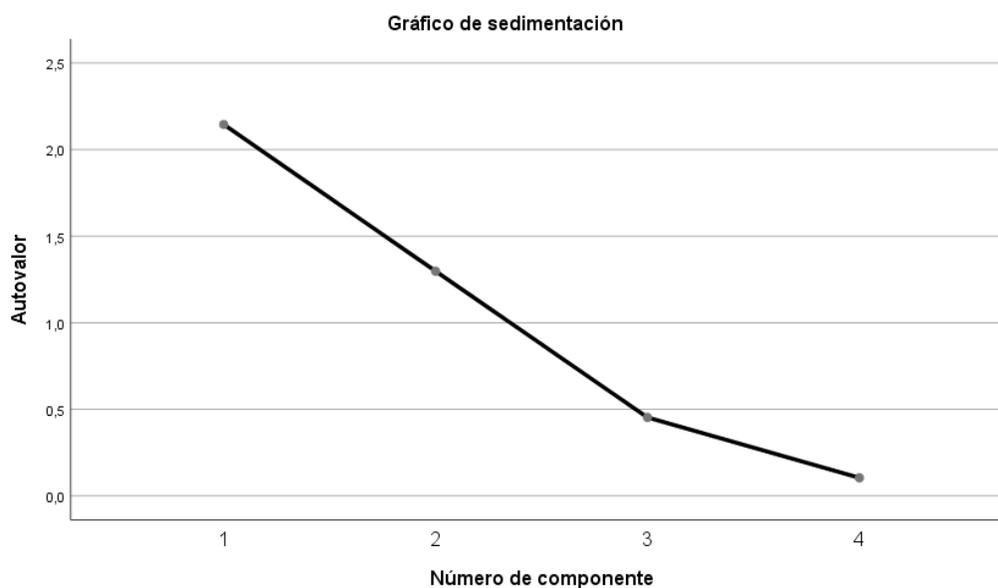
Matriz de componentes

Matriz de componentes		
	1	2
pH	-,939	,074
Acidez	,964	,049
Humedad	,426	,796
Cenizas	-,391	,810

Tabla 29

Porcentajes de varianza total explica

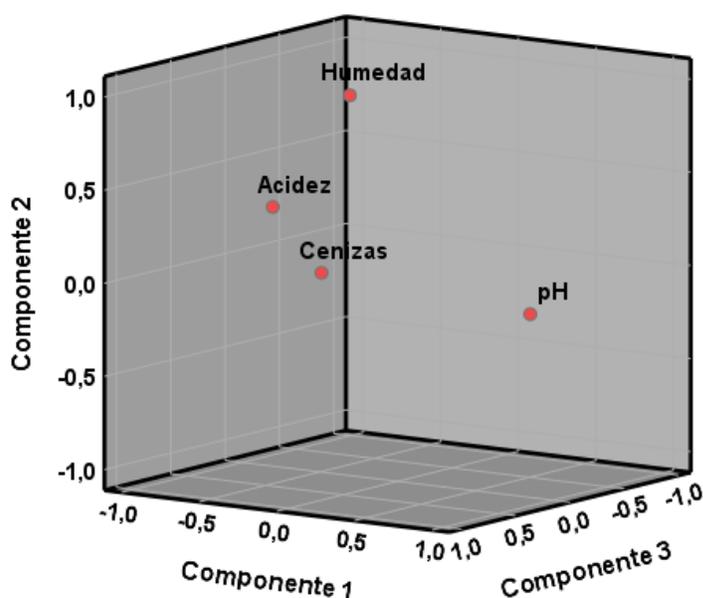
Varianza total explicada						
Componente	Autovalores iniciales			Sumas de cargas al cuadrado de la extracción		
	Total	% de	%	Total	% de	%
		varianza	acumulado		varianza	acumulado
1	2,145	53,624	53,624	2,145	53,624	53,624
2	1,298	32,440	86,065	1,298	32,440	86,065
3	,453	11,323	97,388			
4	,104	2,612	100,000			

Figura 10*Gráfica de sedimentación*

En la figura 10, se determinó 2 componentes con valores significativos que son: pH (componente 1) el cual registra un porcentaje de 53,624 %, acidez (componente 2) que indica un valor de 32,440; mientras que el resto de los componentes no indicaron valores significativos, considerándolos como menos relevantes en la investigación.

Figura 11

Gráfica de componentes principales

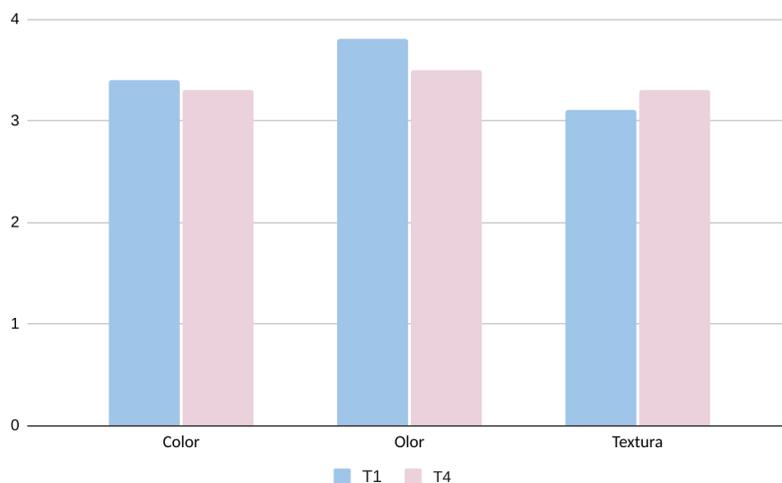


La figura 11, nos indica que en el componente 2 de alguna forma existe relación en las variables de acidez, cenizas y humedad; mientras que en el componente 3 se visualiza al pH con menor relación.

Análisis sensorial

Figura 12

Comparación de los mejores tratamientos del análisis sensorial de las hortalizas en el día 10 de la Bioconservación con los distintos métodos de aplicación.



La figura 12 indica la comparación de los mejores tratamientos, en donde T1: Zanahoria + *L. mesenteroides* + Gelación Iónica, presento mejores resultados para el parámetro de color a diferencia del T2: Zanahoria + *L. Plantarum* + Rocío que presentó una menor aceptación. De igual forma en el parámetro de Olor, el T1: Zanahoria + *L. mesenteroides* + Gelación Iónica, presentó mayor aceptación que el T2: Zanahoria + *L. Plantarum* + Rocío. Por lo contrario, en el parámetro textura, se evidenció menores valores en el T1: Zanahoria + *L. mesenteroides* + Gelación Iónica, a diferencia del T2: Zanahoria + *L. Plantarum* + Rocío que fue el que presentó mayor aceptación.

Capítulo V

Discusión

Las bacterias ácido lácticas son microorganismos indispensables para ciertos alimentos fermentados, esto debido a su capacidad para mejorar ciertas características como el sabor, olor, textura y valor nutricional de los distintos productos. Su influencia se debe a su capacidad metabólica sobre lípidos, proteínas y azúcares, lo cual permite la prolongación de la vida útil de los alimentos. (Kelly Johana Fernández Villa, 2012)

Respecto al Factor A (Hortalizas)

En base a los resultados de los análisis fisicoquímicos, se pudo observar que el pH de la zanahoria dio un resultado de 5,53, siendo este valor comparable con el pH de las zanahorias en buen estado según (Pablo Casaubon-Garcín, 2018), el mismo que indica un valor de 5,71, lo cual nos permite afirmar que no existe deterioro significativo en la hortaliza y el porcentaje degradado puede deberse a la aplicación de las bacterias ácido lácticas.

De igual manera, el pH del apio dio un resultado de 5,85 siendo este similar a los valores normal según (Romero, 2002), en donde se indica que el pH del apio debe oscilar entre los valores de 5,8 a 6,6; lo cual nos refleja una buena acción de las bacterias ácido lácticas como bioconservante.

La acidez de las zanahorias es considerada como la cantidad de ácido predominante en la hortaliza; en este caso (Saúl Dussán-Sarria, 2014), nos indica que la acidez oscila entre 0,23 y 0,01, lo cual presenta semejanza en ciertos tratamientos del estudio mientras que en otros se observan valores superiores de acidez, lo que significa que existe una gran proliferación de bacterias ácido lácticas en cada uno de los parámetros.

Por otro lado, el porcentaje de la acidez para el apio, indicó un valor de 0,51, mostrando una diferencia al estudio de (Yisell Johan Martelo Castaño, 2010), en el cual se obtiene valores de 0,24 y 0,28 %, cabe mencionar que en este estudio desarrollaron el producto mínimamente procesado con un baño de vitamina e. Este aumento de la acidez puede deberse a la presencia de bacterias ácido lácticas y del ácido predominante en cada una de las hortalizas.

El porcentaje de humedad nos permite identificar la cantidad de agua que existe en las hortalizas, en el estudio se determinó que las dos hortalizas presentaron porcentajes similares donde la zanahoria indicó 92,94 % y el apio 93,79 %; siendo este último comparado con el estudio de (Insuasti, 2021) mismo que nos indica valores de humedad para el Apio de 95 a 98%. De igual forma (Insuasti, 2021) menciona que estos porcentajes permiten la conservación de las hortalizas sin modificar su valor nutricional y su vida útil. Sin embargo (M. J. Vázquez Vila(p), 2007), indica que estos porcentajes sin algún método de conservación pueden llegar a desfavorecer a la hortaliza ya que esto permite la fácil adaptación de microorganismos.

Según (Roxana María Hernández Rendón¹, 2015), los porcentajes de cenizas en zanahoria oscilan entre valores de 7.62 % a 8,75 % siendo esto aceptable con nuestro estudio, ya que se tuvo un valor de 8,14 %.

El apio presentó un porcentaje de cenizas de 14,28 %, siendo este comparable con los valores otorgados por (MSP, 1991), el mismo que indica un porcentaje de 10 %. Estos valores hacen referencia a la cantidad total de minerales que poseen los alimentos (MSP, 1991) cabe mencionar que según (Alvarez, 2010) en estos residuos no se encuentran los elementos totales tal como la muestra inicial, ya que existen pérdidas por volatilización o por diversas interacciones.

Respecto al Factor B (Bacterias ácido lácticas)

En este factor se evaluó los distintos tipos de bacterias que influyeron en la conservación de las hortalizas a partir de dos métodos de aplicación.

Se observó que el pH para los tres tipos de bacterias se mantuvo en rangos similares, lo cual nos indica que existe un buen desempeño y producción del ácido lácticas ya que según (Martín del Campo M., Gómez H., & Alaníz de la O., 2008) estas funcionan mucho mejor en pH bajos que van desde 6,1 a 4. Cabe mencionar que entre más producción de BAL, se observa mayor disminución de pH. Sin embargo, se observa una diferencia entre ellas para la bacteria *Leuconostoc mesenteroides*, misma que indicó un pH de 5,53 siendo este

De igual forma para la acidez se observan valores similares en los tres tipos de bacterias, los mismos que según (Ángela M. León P.1, 2006) son valores que las BAL generan debido a su capacidad de disminuir pH y generar acidez como ácido láctico, málico, entre otros. Es por ello que al poseer valores similares de pH también los tendrán de acidez ya que la aplicación de estas Bal en la mayoría de los tratamientos fue similar.

La influencia del % de Humedad para los tres tipos de bacterias se presentó en valores similares. De esta forma se observa la influencia de las Bal debido a que según (Saúl Ruiz Cruz, 2006), el crecimiento de estas bacterias repercute en la síntesis de ácidos orgánicos, generando daños en los tejidos de las verduras.

En la variable cenizas se determinó valores desde 11,14 a 11,30 %, siendo estos valores que se encuentran dentro del rango establecido según (Alvarez, Determinación de cenizas totales o residuo mineral, 2010) ya que nos indica valores hasta 12%.

Respecto al Factor C (Métodos)

En este factor se evaluó los distintos métodos de aplicación de bacterias ácido lácticas a las hortalizas mismos que fueron por gelación iónica y por rocío.

En el pH, se pudo observar que la Gelación Iónica presentó mayor valor, lo cual puede deberse a la solución encapsulante que fue el alginato de sodio, la misma que oscila un pH de entre 5,5 a 10; por lo contrario, el pH del método de Rocío indico un pH de 5,17, el cual según (Vallejo, Ledesma, Anselmino, & Marguet, 2014), se encuentra dentro del rango de pH de bioconservante, basado en la producción libre de bacterias ácido lácticas.

La acidez del método de Gelación iónica fue inferior al de rocío, esto puede deberse a que la producción de ácido por el medio gelificado es más lenta que por el otro método ya que este se encuentra de manera libre para producir acidez a partir de las ácido lácticas, lo cual comparamos con el estudio del cual nos indica que se observó un incremento de acidez en el tratamiento con la bacteria libre y no con el encapsulado, debido a que como las bacterias se encontraban libre lograron un margen de producción de ácido ocasionando la acidificación del medio.

Los porcentajes de humedad para los dos métodos proporcionaron valores similares, puesto a que su almacenamiento fue similar, esto valores se encuentran dentro del rango requerido ya que un valor mucho más saturado puede ocasionar la presencia de microorganismos patógenos, generando una disminución de la vida útil de las hortalizas. (Antonio De Michelis) menciona que este proceso puede llevar a ocasionar una pérdida en ciertos nutrientes del producto.

Los porcentajes de cenizas no variaron en el estudio debido a que la influencia del método no fue directamente proporcional a esta variable, ya que esta fue específicamente de la materia seca.

Respecto a la Interacción AxBxC (Hortaliza x Bacteria x Método)

Para el pH, los tratamientos con zanahoria presentaron diferencia con el método de rocío para los tres tipos de bacterias ácido lácticas, en donde *L. mesenteroides* presentó un valor de 4.86, *L. plantarum* de 4,97 y *L. lactis* de 4,95 a comparación del método de gelación iónica que presentó valores de pH mayores en donde *la. mesenteroides* tuvo un valor de 5,99, *L. plantarum* 6,13 y *L. lactis* 6,29; siendo estos valores similares a los que indica (Martín del Campo M., Gómez H., & Alaníz de la O., 2008); Se pudo determinar que *L. mesenteroides* con el método de rocío en las zanahorias presentó mayor producción de ácido lácticos, esto puede verse influenciado por la aplicación del método ya que esta se lo realiza de manera directa en la hortaliza.

Así mismo el apio nos indica que el método de rocío presentó menores valores de pH para las tres bacterias en donde *L. mesenteroides* tuvo un valor mucho más bajo de 5,07, *L. plantarum* tuvo 5,64 y *L. lactis* 5,53; A comparación del método de gelación iónica el cual nos dio resultados en *L. mesenteroides* de 6,22, *L. plantarum* 6,26 y *L. lactis* 6,39; estos resultados tienen a ser preocupantes ya que según (Henry Jurado-Gómez, 2017) los pH de 7 a 7,8 tienden a ser más propensos a que exista crecimiento de microorganismos patógenos.

La acidez determinada en el estudio nos indicó que para la zanahoria el método de gelación iónica dio menores valores para las tres bacterias en donde *L. mesenteroides* indicó un valor más bajo de 0,16; mientras que *L. plantarum* y *L. lactis* presentan valores similares de 0,32, esto corroboramos con el estudio (Henry Jurado-Gómez, 2017) ya que aquí se indica que los valores de acidez entre estas dos bacterias tienden a ser similares. Por lo contrario, el método de rocío indicó para *L. mesenteroides* un valor de 0,89, *L. plantarum* 0,97 y *L. lactis* 1.05.

Así mismo se observa en el apio que los valores de acidez para el método de gelación iónica fueron para *L. mesenteroides* 0,41, *L. Plantarum* 0,57 y para *L. lactis* de 0,24; mientras que en el método de rocío se observó una acidez de 0,97 para *L. mesenteroides*, 0,41 para *L. plantarum* y para *L. lactis* de 0,49.

Estas diferencias presentan similitud en base a lo mencionado por (Hugo Calixto Fonseca) en donde nos indica la correlación que existe en donde entre menor pH, se genera mayor acidez.

En cuanto a los valores del % de humedad se pudo evidenciar que estos eran similares para los dos métodos de aplicación con los tres tipos de bacterias en los dos tipos de hortalizas manteniéndose en valores que oscilaban 90 a 94 % de humedad, puesto que según (Saúl Ruiz Cruz, 2006) gracias a los pretratamientos antes de ser almacenadas, estas son capaces de retener ciertos aspectos de calidad, lo cual ocasiona que no exista degradado o daño en la hortaliza.

El porcentaje de cenizas nos permite identificar la cantidad de materia mineral existente en el alimento, en el estudio se observaron los siguientes valores en la zanahoria por el método de gelación iónica en donde *L. mesenteroides* indica 8,65, *L. plantarum* 9,12 y *L. lactis* 8,56. Por consiguiente el método de rocío nos indica valores de 7,82 para *L. mesenteroides*, 7,38 para *L. plantarum* y 7,34 para *L. lactis*. Estos valores se encuentran dentro de los rango determinados para las cenizas que menciona (Alvarez, Determinación de cenizas totales o residuo mineral, 2010). De igual forma el apio indica los valores por el método de gelación iónica en donde *L. mesenteroides* tiene un valor de 14,27, *L. plantarum* 13,25 y *L. lactis* 13,75, siendo estos valores superiores a los determinados por (Alvarez, Determinación de cenizas totales o residuo mineral, 2010) lo cual puede deberse a cierta variación en los procesos de pesado o la exposición al ambiente.

Capítulo VI

Conclusiones

Factor A (Hortalizas)

En base a los distintos análisis físico químicos realizados a las hortalizas a los 10 días de bioconservación, se pudo determinar que la zanahoria presentó mejores características en las variables de pH con 5,53, acidez de 0,62 y cenizas con 8,14%, siendo estos valores óptimos para el crecimiento de bacterias ácido lácticas y para la conservación.

Sin embargo, el Apio presentó mayor porcentaje de Humedad con 93,8 %, siendo este valor más propenso a que exista crecimiento de microorganismos patógenos.

Respecto al conteo bacteriano se determinó que las zanahorias presentaron una mayor cantidad de UFC/mL, indicando que esta hortaliza es más resistente a degradación o contaminación.

En base a los resultados obtenidos, se puede decir que se acepta la hipótesis alternativa y se concluye que el tipo de hortaliza si influye en la bioconservación con bacterias ácido lácticas.

Factor B (Bacterias)

Tomando en cuenta los resultados de los distintos análisis físico químicos realizados a las hortalizas a los 10 días de bioconservación, se pudo observar un efecto positivo en la bacteria *Leuconostoc mesenteroides*, la misma que presentó valores positivos para las variables de pH con 5,53, acidez con 0,61; siendo estos, indicativos de la existencia de crecimiento de bacterias ácido lácticas, lo que conlleva a un buen desempeño bioconservante; mientras que con *Lactococcus lactis* se evidencio un pH superior y a su vez la acidez tendió a

decrecer a 0,53. Por lo tanto se acepta la hipótesis alternativa y se concluye que el tipo de bacteria si influye en el proceso de bioconservación de la hortaliza.

Factor C (Métodos)

A partir de los resultados obtenidos de los distintos análisis físico químicos realizados a las hortalizas a los 10 días de bioconservación, se pudo determinar que el método de Rocío presentó mejores características para las variables de pH con 5,17 y acidez con 0,80. Sin embargo el método de Gelación Iónica presentó mejores resultados para la humedad con (92,84 %) y cenizas con (11,26 %). Lo cual se relaciona con la aplicación del método de rocío, el mismo que es de manera libre y directa en el producto; mientras que la gelación iónica es externa.

Por lo tanto, el método de aplicación de las bacterias ácido lácticas si influyen en la bioconservación de las hortalizas.

Interacción AxBxC (Hortaliza x Bacteria x Método)

Analizando los resultados obtenidos de las distintas pruebas fisicoquímicas realizadas a las hortalizas a los 10 días de bioconservación, se pudo identificar que el tratamiento Zanahoria + *Leuconostoc mesenteroides* + Rocío, fue el que presentó mejores resultados para la variable pH con (4,86); Sin embargo, el uso de *Leuconostoc* con rocío para el apio también dio buenos resultados en cuanto al pH con (5,07).

Mientras que para la acidez el que presentó mejor resultado fue el tratamiento de Zanahoria + *Lactococcus lactis* + Rocío con (1,05). Sin embargo, en el Apio *Leuconostoc mesenteroides* por rocío indicó mejores resultados (0,97).

El tratamiento de Zanahoria con *Leuconostoc mesenteroides* y por Gelación Iónica indicó mejor valor de Humedad con (90,81%), mientras que la Zanahoria con *Lactococcus lactis*

y por Rocio (95,59 %), presentó mayor humedad, siendo este más propenso a contaminación con patógenos.

Recomendaciones

Tomando en consideración los resultados obtenidos de los análisis de las distintas pruebas fisicoquímicas, como pH, acidez, humedad y cenizas; se recomienda el uso del método de rocío para la aplicación de bioconservante, ya que al ser un método directo otorga mejores y notables beneficios a los productos.

Utilizar la bacteria *Leuconostoc mesenteroides* para la bioconservación de hortalizas ya que indica mejores resultados de conservación en los parámetros fisicoquímicos evaluados, otorgando pH menores a 5, lo cual es óptimo para el crecimiento de las BAL.

En base a los resultados la zanahoria es una excelente hortaliza para estudios de bioconservación, ya que su poca humedad disminuye el crecimiento de microorganismos patógenos, permitiendo una mejor adaptación de las BAL.

Como consecuencia a lo investigado, se recomienda implementar el uso de la Gelación Iónica ya que es una herramienta biotecnológica que puede llegar a generar mejores resultados en la conservación de las hortalizas, que los obtenidos actualmente.

Capítulo VII

Bibliografía

- Alexander, P. M. (2021). Efecto De Trasplante De Plántulas En Parámetros Morfoagronómicos Del Cultivo De Zanahoria (*Daucus Carota*). Machala.
- Alvarez, C. M. (2010). Determinación de cenizas totales o residuo mineral.
- Ana B. Benavides, M. U. (2016). Evaluación de las propiedades bioactivas in vitro de bacterias ácido lácticas aisladas de nichos ecológicos nativos del Ecuador. Quito.
- Andrés Sebastián Défaz Gavilanes, J. F. (2017). Evaluación de alginato de sodio en la encapsulación de *Lactobacillus plantarum* en yogur sin sabor. Honduras.
- Angel, C. (2005). El cultivo del Apio. 2009.
- Ángela M. León P.1, O. I. (2006). Bacterias Ácido Lácticas (Bal) Silvestres Colombianas Presentan Propiedades Adecuadas Para La Fabricación De Masa Ácida. Medellín.
- Antonio De Michelis, E. O. (s.f.). Deshidratación Y Desecado De Frutas, Hortalizas Y Hongos Procedimientos Hogareños Y Comerciales De Pequeña Escala.
- Artés, F., Gómez, P., Artés--Hernández, F., & Aguayo, E. (2011). Innovaciones en el mantenimiento de la calidad y seguridad alimentaria de los productos hortícolas. Hermosillo: Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha.
- Bintsis, T. (2018). Lactic acid bacteria as starter cultures: An update in their metabolism and genetics. 2018 the Author(s), licensee AIMS Press. This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>).
- Bogotá, C. d. (2015). Programa De Apoyo Agrícola Y Agroindustrial Vicepresidencia De Fortalecimiento Empresarial. Bogotá: Proyecto realizado por: Núcleo Ambiental S.A.

- Carolina, G. G. (2015). Evaluación del comportamiento poscosecha de zanahoria amarilla con 3 tiempos de hidrocóling, 2 atmósferas modificadas y 3 temperaturas de almacenamiento en el Ceypsa, Universidad Técnica de Cotopaxi . Latacunga.
- Cruz-Tobar, E., Vega-Chariguamán, J., Gutiérrez Albán , A., González-Rivera, M., Saltos-Espín, R., & González-Rivera, V. (2018). Application of organic fertilizers in production of zanahoria (*Daucus carota* L.). Ambato: Revista de Investigación Talentos. doi:<https://doi.org/10.33789/talentos.5.81>
- Dayong Ren, J. Z. (2018). Características antimicrobianas de bacterias ácido lácticas aisladas de alimentos fermentados caseros. BioMed Research International .
- Favaro, J. C., & Bouzo, C. (2019). Cultivo de Apio. Loja.
- González, M. G. (s.f.). ESTADO ACTUAL DE LOS PRODUCTOS MÍNIMAMENTE PROCESADOS EN ESPAÑA. ESPAÑA: Laboratorio de Fisiología Vegetal (Dpto. Fruticultura Tropical), Instituto Canario de Investigaciones Agrarias.
- Henry Jurado-Gómez, V. J.-J.-M. (2017). Efecto bioconservante del sobrenadante de *Lactobacillus plantarum* y *Lactobacillus lactis* en lomo de cerdo (*Longissimus dorsi*). Bogotá.
- Heredia Castro, P., Hernández Mendoza, A., & González Córdova, A. C. (2017). Bacteriocins Of Lactic Acid Bacteria: Mechanisms Of Action And Antimicrobial Activity Against Pathogens In Cheese. Mexico.
- Hernani Larre, C., Flórez F., M., & Huapaya Y., J. (2007). Evaluación de la actividad antimicrobiana de bacterias ácido lácticas. La Molina: Horizonte Médico, vol. 7, núm. 1, junio, 2007, pp. 16-22.
- Herrera Narváez, A. F. (2016). Influencia del uso de apio (*Apium graveolens*) en la calidad de los chorizos frescos tipo Cuencano y Parrillero. Guayaquil: Universidad Católica de Santiago de Guayaquil.

- Huertas, R. A. (2010). REVIEW. BACTERIAS ACIDO LACTICAS: PAPEL FUNCIONAL EN LOS ALIMENTOS.
- Hugo Calixto Fonseca, E. R. (s.f.). Crecimiento, viabilidad y post-acidificación de *Lactobacillus plantarum* en la leche de transición bovina.
- Inocente Quiroz, F. E., Eccoña Sota, A., & Silva Paz, R. J. (2021). Alimentos minimamente procesados. Trujillo: Agroindustrial Science.
- Insuasti, J. C. (2021). Análisis De Sistemas De Almacenamiento Para Brócoli. Riobamba .
- Kelly Johana Fernández Villa, I. C. (2012). Caracterización De Los Metabolitos De Bacterias Ácido Lácticas Y Efecto Inhibidor De Las Bacteriocinas En Microorganismos Patógenos En Alimentos: Revisión Sistemática De La Literatura, 2008-2012. Medellín.
- Lopez Colorado, L. C., & Villalta Hernandez, M. A. (2009). Propuesta de una metodo para la elaboración de microesferas matriciales de acido acetilsalicilico utilizando alginato de sodio por la tecnica de gelificacion Ionica. El Salvador.
- López Paredes, J. M. (2021). Aislamiento y caracterización de bacterias ácido lácticas en dos variedades de cacao (mucílago), Nacional y CCN-51, para la bioconservación de papaya (*Carica papaya*) y naranjilla (*Solanum quitoense*). Santo Domingo: Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE. ESPESD. Carrera de Ingeniería en Biotecnología.
- M. J. Vázquez Vila(p), F. C. (2007). Cinéticas De Deshidratación De Zanahorias Mediante Deshidratación Osmótica Y Secado Con Aire.
- Martín del Campo M., C. I., Gómez H., H. E., & Alaníz de la O., R. (2008). Bacterias ácido lácticas con capacidad antagónica y actividad bacteriocinogénica aisladas de quesos. Guadalajara, México.
- Michiel Kleerebezem, W. M. (2011). Lactic acid bacteria: life after genomics. 2023 Applied Microbiology International.
- Moreiras, O., Carbajal, Á., & Cabrera Luisa, C. C. (2009). Tablas de composición de alimentos. Madrid.

- MSP, M. d. (1991). Por la cual se definen las características de las especias o condimentos vegetales y se dictan normas sanitarias y de calidad de estos productos y de sus mezclas.
- Nallely Ortiz Romero, L. A.-M.-H.-Q.-I. (2021). Avances en las investigaciones sobre la encapsulación mediante gelación iónica: una revision sistematica. Durango-México: Instituto Tecnológico Metropolitano.
- NTE INEN, 3. (1985). Conservas Vegetales: Determinación de acidez titulable metodo potenciometro de referencia. Norma tecnica ecuatoriana.
- NTE INEN, 3. (1985). Conservas Vegetles: Determinación de la concentración del ion hidrogeno (pH). Norma tecnica ecuatoriana.
- NTE INEN, 3. (2013). Conservas Vegetales: Determinación de materi seca (Solidos totales). Norma tecnica ecuatoriana.
- Ortiz-Romero, N., Ochoa-Martínez, L. A., González-Herrera, S. M., & Rutiaga-Quiñones. (2021). Avances en las investigaciones sobre la encapsulación mediante gelación iónica:una revisión sistemática. Colombia : Avances en las investigaciones sobre la encapsulación mediante gelación iónica: una revisión sistemática.
- Pablo Casaubon-Garcín, P. L.-S.-A.-M.-F.-L. (2018). pH de los alimentos: ¿una herramienta para el manejo de los pacientes con refl ujo gastroesofágico? Ciudad de México.
- Payan, J. P. (1995). Cultivo de Zanahoria. Santo Domingo.
- Ramírez Ramírez, J., Rosas Ulloa, P., Velázquez González, M., Ulloa , J., & Arce Romero, F. (s.f.).
- Rendón Ledesme, V. (2021). Manejo poscosecha del cultivo de zanahoria (*Daucus carota* L.). Babahoyo.
- Rojas, A. E. (2015). Evaluación del comportamiento poscosecha de cinco hortalizas producidas mediante agriculturaconvencional y agricultura organica. Quito.

- Romero, C. C. (2002). Evaluación De Tres Densidades Y Dos Arreglos Espaciales En Producción Orgánica Hidropónica De Apio. San Salvador .
- Roxana María Hernández Rendón¹, D. J. (2015). Evaluación de polvos de zanahoria obtenidos por deshidratación por aire forzado a diferentes temperaturas.
- Saúl Dussán-Sarria, C. A.-M.-G. (2014). Cambios Físico-Químicos y Sensoriales Producidos por el Tipo de Corte y Empaque en Zanahoria (*Daucus carota* L.) Mínimamente Procesada. Colombia.
- Saúl Ruiz Cruz, Y. L. (2006). Acidified sodium chlorite as an alternative to chlorine to control microbial growth on shredded carrots while maintaining quality.
- Surec Rabinal, S. H. (2017). Evaluación de tres densidades de siembra, en la producción de Apio, en la aldea chirijuyú, Tecpán, Chimaltenango, Guatemala. Guatemala.
- Thayná Thamires Freire, A. L. (2021). Lactic acid bacteria its characteristics and importance: review. *Research, Society and Development*, 10(11).
- Vallejo, M., Ledesma, P., Anselmino, L., & Marguet, E. (2014). Efecto de las condiciones de crecimiento y composición del medio de cultivo sobre la producción de bacteriocina de *Enterococcus mundtii* Tw56. Bogotá, Colombia.
- Yisell Johan Martelo Castaño, M. C. (2010). Desarrollo De Apio Mínimamente Procesado Fortificado Con Vitamina E, Utilizando La Ingeniería De Matrices. Medellín.